



Sandro Correia Belchior

Licenciado em Química Aplicada

Síntese de novas glico-macromoléculas com potencial actividade biológica

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Química Bioorgânica

Orientadora: Maria Teresa Barros Silva, Professora Associada
com Agregação, FCT-UNL

Outubro 2018



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA



Sandro Correia Belchior

Licenciado em Química Aplicada

Síntese de novas glico-macromoléculas com potencial actividade biológica

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Química Bioorgânica

Orientadora: Maria Teresa Barros Silva, Professora Associada
com Agregação, FCT-UNL

Outubro 2018



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Sandro Correia Belchior

**Síntese de novas glico-macromoléculas com potencial
actividade biológica**

Copyright © Sandro Correia Belchior, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade
Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

De forma muito breve e concisa, gostaria inicialmente de agradecer à Prof. Maria Teresa Barros por todo o apoio e dedicação ao longo desta jornada, pela paciência e todo o conhecimento e ajuda transmitidos na realização deste trabalho.

À Cláudia Raposo por todo o tempo e ajuda que disponibilizou, quer no laboratório, quer fora dele, sempre com uma grande boa vontade.

Gostaria também de agradecer a todos os colegas do grupo de investigação com os quais trabalhei, e também a todos os colegas, amigos e familiares que sempre me apoiaram ao longo do percurso.

Queria também deixar uma pequena mensagem de agradecimento à FCT, a todos os órgãos e associações da faculdade e todos os professores e técnicos com os quais tive o prazer de trabalhar ao longo destes anos nesta casa, porque sem eles não seria possível.

Para terminar, mas não menos importante, um grande obrigado à Ana Sofia Santos por toda a paciência e pela força de vontade que me transmitiu, e aos meus queridos pais e irmão por proporcionarem e apoiarem de forma incessante esta minha jornada.

Um muito obrigado a todos.

Resumo

O importante papel dos carboidratos em medicina e biologia, tem levado ao desenvolvimento de novas estruturas funcionalizadas com as propriedades desejadas, sendo esta uma área em constante expansão que permite o acesso a uma larga gama de novos compostos mono ou multivalentes, nomeadamente glicoconjugados.¹

Neste sentido, existe um esforço por parte dos químicos sintéticos para a modificação de carboidratos, gerando possíveis compostos designados como miméticos, de modo a aumentar a estabilidade metabólica e química, inserir grupos funcionais que melhorem a interação com diversos receptores ou enzimas e permitir a ligação a outras unidades, como açúcares, proteínas ou suportes sólidos.²

Neste contexto, procurou-se sintetizar compostos que incorporassem diversas unidades com actividade biológica promissora, nomeadamente manose, cumarina, timidina e ainda triazole. Desta forma combinaram-se as características de diversos compostos, tais como, a capacidade das cumarinas actuarem como marcadores fluorescentes, a biocompatibilidade da timidina, visto esta possuir o nucleosídeo timina facilmente reconhecido pelo organismo e por fim o triazole sendo este um núcleo azotado com potencial interesse medicinal.

Por outro lado, de modo a potencializar a hipótese de obter nanopartículas, foi incorporado um polímero. De modo a tornar esta estratégia biocompatível, optou-se por incorporar polietilenoglicol-2000, uma vez que este polímero tem um baixo custo, e é biocompatível e termicamente estável, permitindo melhorar a biodisponibilidade de diversos fármacos.

Resumindo, pretendeu-se desenvolver uma síntese eficiente e sustentável deste tipo de compostos contendo várias unidades com interesse medicinal e com potenciais actividades biológicas.

Termos Chave

Manose, carboidratos, biocompatibilidade, timidina, cumarina, triazole

Abstract

The important role of carbohydrates in medicine and biology has led to the development and synthesis of new functionalized structures with promising properties. Thus, this is an expanding area that allows the access to a large range of new compounds, including glycoconjugates.¹

So, there is a continuous effort to modify carbohydrates, and originate different compounds that are known as mimetics to increase metabolic and chemical stability, insert functional groups that will improve the interaction with different receptors or enzymes and allow the chemoselective bond to other units like sugars, proteins and solid supports.²

Thus, in this work we hope to combine different units with relevant biologic activity including mannose, coumarin, thymidine and triazole. This way we will combine different characteristics of these compounds such as, the capacity of coumarins to act as fluorescent tags, thymidine's biocompatibility, since this structure includes thymine a nucleoside that is easily recognized by the organism, and triazole, that is a heterocyclic compound with potential medicinal interest.

In order to make this strategy more biocompatible and investigate the possibility of synthesizing nanoparticles, a soluble polymer support was incorporated, PEG-2000, since this polymer is reported as being cheap, bio-compatible and thermally stable and allows to improve the bioavailability of some drugs.

This way we hope to develop a new and more sustainable synthesis for this type of compounds that combines mannose with all these units with medicinal interest and possibly study the different biological activities associated with each compound.

Keywords

Mannose, carbohydrates, biocompatibility, thymidine, coumarin, triazole

Índice

Agradecimentos.....	v
Resumo.....	vii
Abstract.....	ix
Lista de figuras.....	xii
Lista de esquemas.....	xiii
Lista de tabelas.....	xiv
Lista de abreviaturas.....	xv
Lista de compostos.....	xvi
I – Introdução.....	1
I.1 – Objetivos.....	3
I.2 – A nanotecnologia e a aplicação de nano-fármacos.....	4
I.2.1 – Importância dos Carboidratos	4
I.2.1.1 – Manose e a sua relevância sintética	7
I.2.2 – Cumarinas: sua síntese e aplicação	9
I.2.3 – PEG (polietilenoglicol)	11
I.2.4 – Timidina.....	13
I.2.5 – Triazole.....	14
I.3 – Métodos de análise.....	15
I.3.1 – Espectroscopia de Infravermelho.....	15
I.3.2 – Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear.....	16
II - Resultados e discussão.....	17
II.1 – Funcionalização de cumarinas.....	18
II.2 – Funcionalização de timidina.....	19
II.3 – Síntese de unidades de carboidratos usando PEG-2000 como suporte polimérico solúvel.....	22
II.4 – Derivatização da manose.....	26
II.5 – Considerações finais	30
III – Parte experimental.....	33
III.1 – Prêambulo.....	34
III.2 – Síntese de cumarinas funcionalizadas.....	35
III.2.1 – Síntese de 3- <i>N</i> -acetamidil-7-acetil-2-oxo-cumarinilo.....	35
III.2.2 – Tentativa de síntese de 3-azido-7-hidroxi- cumarinilo.....	36
III.2.3 – Síntese de ácido (4,8 – dimetil – 7- <i>O</i> -propagil-3-cumarinil)-3-propanóico.....	36
III.3 – Reações de funcionalização da timidina.....	37
III.3.1 – Tentativa de síntese de ácido 4-((3-hidroxi-5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1-(2H)il)tetrahidrofuran-2-il)metoxi)-4-oxobutanóico.....	37
III.3.2 – Tentativa de síntese de 5'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butildimetilsilil-timidina.....	38
III.3.3 – Tentativa de síntese de succinato benzílico de 5'- <i>O</i> -timidina.....	38
III.3.4 – Tentativa de síntese de succinato <i>O</i> -5'-timidinil de polietilenoglicolil 2000.....	39
III.4 – Síntese de derivados de carboidratos.....	39
III.4.1 – Síntese de 1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -acetil -D-manopirranose.....	39
III.4.2 – Síntese de 1-bromo-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- α -D-manopirranose.....	40
III.4.3 – Síntese de 1-azido-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- β -D-manopirranose.....	40
III.4.3A – Tentativa de síntese de 1-azido- β -D- manopirranose.....	41
III.4.4 – Síntese de 1- <i>O</i> - polietilenoglicolil 2000 - 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- α -D- manopirranose.....	41
III.4.5 – Tentativa de síntese de 1- <i>O</i> - tosilato de polietilenoglicolil 2000 - 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- α -D-manopirranose.....	42
III.4.6 – Tentativa de síntese de succinato de timidinil-3''- <i>O</i> -(1- <i>O</i> -polietilenoglicolil 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- α -D- manopirranosilo.....	43
III.4.7 – Síntese de succinato de 3'- <i>O</i> -propargil 1- <i>O</i> -polietilenoglicolil 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- α -manopirranose.....	43
III.4.8 – Tentativa de síntese de 1-[triazolil-2''-(ácido(4',8'-dimetil-7'- <i>O</i> -etil-3'-cumarinil)-3'-propanóico)]- 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- β -D- manopirranose.....	44
Bibliografia.....	45
Apêndice e esquemas gerais	47

Lista de figuras

Figura 1 - Estrutura alfa e beta da manose	7
Figura 2 - Estrutura da Varfarina: fármaco anticoagulante	9
Figura 3 - Diferentes tipos de estruturas de PEG utilizados para derivatização de fármacos e péptidos.....	11
Figura 4 – Estrutura da azidotimidina	13
Figura 5 - Estrutura da timidina (derivado de pirimidina)	13
Figura 6 – Espectro de ^1H -RMN do composto III.4.4 em CDCl_3 ,	23
Figura 7 – Espectro de ^1H -RMN do composto III.4.7 em CDCl_3 ,	26
Figura 8 - Espectro de ^1H -RMN resultante da tentativa de síntese do composto III.2.2 em CDCl_3 ,	50
Figura 9 - Espectro de ^1H -RMN do composto III.2.3 em CDCl_3	51
Figura 10 - Espectro de ^1H -RMN da tentativa de síntese do composto III.3.1 em CDCl_3	52
Figura 11 - Espectro de ^1H -RMN do composto III.4.1 em CDCl_3	53
Figura 12 - Espectro de ^1H -RMN do composto III.4.3 em CDCl_3	54
Figura 13 - Espectro de ^{13}C -RMN do composto III.4.3 em CDCl_3	55
Figura 14 - Espectro de ^1H -RMN do composto III.4.4 em CDCl_3	56
Figura 15 - Espectro de ^1H -RMN do composto III.4.7 em CDCl_3	57
Figura 16 - Espectro de IV do composto III.4.3	58
Figura 17 - Espectro de IV do composto III.2.3	59
Figura 18 - Espectro de IV do composto III.4.1	60
Figura 19 - Espectro de IV do composto III.4.4	61
Figura 20 - Espectro de IV do composto III.4.7	62

Lista de esquemas

Esquema 1 – Classificação e exemplos de diferentes carboidratos	5
Esquema 2 – Exemplos de derivados comuns de carboidratos.....	6
Esquema 3 - Diferentes metodologias de acetilação e consequente orientação do substituinte no carbono anomérico	7
Esquema 4 – Exemplificação de métodos sintéticos para produzir D-manose reportado por Zhang.	8
Esquema 5 - Metodologias muito utilizadas na síntese de cumarinas	9
Esquema 6 - Exemplo de condensação tipo Pechmann entre resorcinol e etil acetoacetato.....	10
Esquema 7- Exemplo de condensação de Knoevenagel entre 2-hidroxibenzaldeído e o dietil malonato. ¹⁶ .10	
Esquema 8 - Métodos frequentemente utilizados na síntese de triazoles	15
Esquema 9 – Vias sintéticas possíveis para as coumarinas III.2.1 e III.2.2	18
Esquema 10 – Síntese da cumarina III.2.3 a partir de ácido (4,8 – dimetil – 7-hidroxil -3-cumarinil)-3-propanóico	19
Esquema 11 – Tentativa de síntese do derivado de timidina III.3.1 utilizando anidrido succínico	19
Esquema 12 – Tentativa de reação entre o derivado de timidina e a cumarina III.2.1	20
Esquema 13 – Tentativa de síntese de derivados PEGilados a partir da timidina III.3.1	20
Esquema 14 – Tentativa de reação de benzilação do derivado III.3.1	21
Esquema 15 – Síntese do composto III.3.2 através de proteção com TBDMSCl.....	21
Esquema 16 - Mecanismo proposto para a formação do derivado PEGilado a partir de manose acetilada ..	22
Esquema 17 - PEGilação de carboidratos através do derivado III.4.1 e III.4.2	22
Esquema 18 - Reação de tosilção do derivado PEGilado III.4.4	23
Esquema 19 - Acoplamento do açúcar PEGilado ao derivado de timidina III.3.1	24
Esquema 20 – Possível mecanismo na reação de acoplamento, seguida de adição de brometo de propargilo para formação do derivado III.4.7	25
Esquema 21 - Reação de acetilação da manose.....	27
Esquema 22 - Reação de azidação de manose bromada	28
Esquema 23 - Ciclo catalítico proposto para a reação de CuAAC.	29
Esquema 24 - Resumo da síntese de novas glico-macromoléculas	30
Esquema 25 - Esquema geral para funcionalização de cumarinas e síntese de novos derivados de carboidratos.	48
Esquema 26 - Esquema geral de tentativa de síntese de novos derivados de timidina	49

Lista de tabelas

Tabela 1 - Diferentes PEG activados para conjugação.....	12
Tabela 2 – Ensaios com açúcares e diferentes catalisadores	42

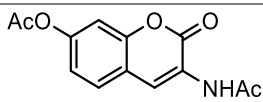
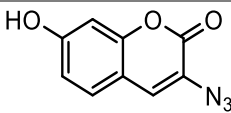
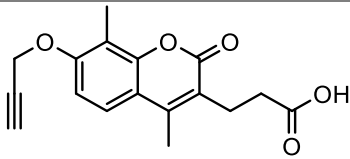
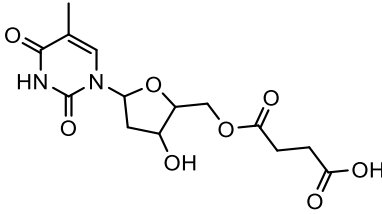
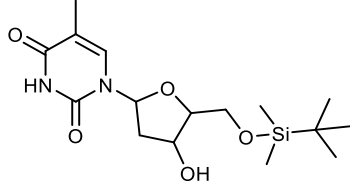
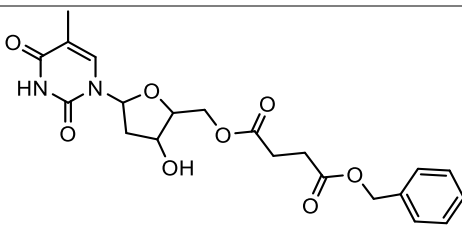
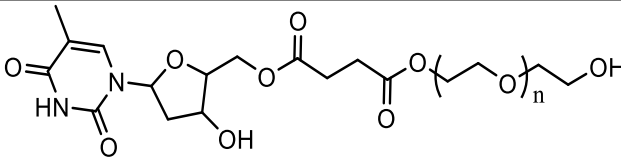
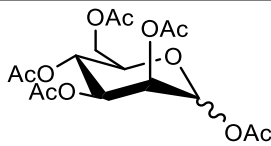
Lista de abreviaturas

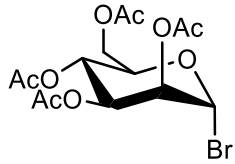
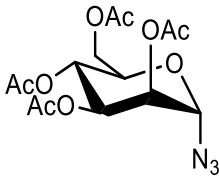
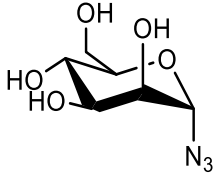
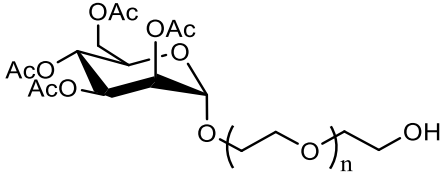
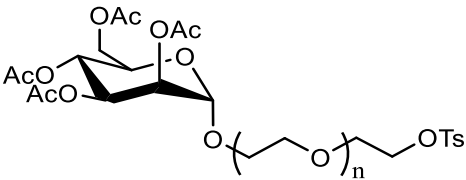
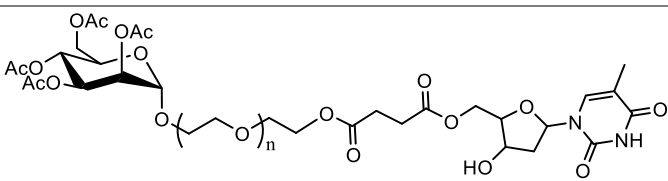
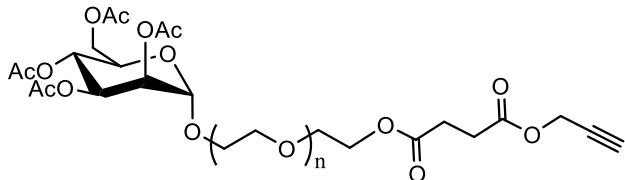
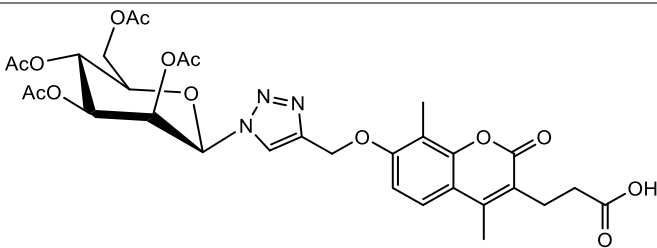
Ac	Acetilo
Aprox.	Aproximadamente
c.c.f	Cromatografia de camada fina
CuAAC	<i>Cooper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition</i>
DCC	<i>N,N'</i> -Diciclohexilcarbodiimida
DCM	Diclorometano
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfoxido
equiv.	Equivalentes
IV	Espectroscopia de Infravermelho
JBMan	Enzima alfa-manosidase
PEG	Polietilenoglicol
RMN	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear
t.a	Temperatura ambiente
TBDMS	Terbutildimetilsilil
TBDMSCl	Cloreto de terbutildimetilsilil
TEA	Trietilamina
THF	Tetrahidrofurano
Ts	Tosil

Tabela RMN

s	Singleto
d	Dubleto
t	Tripleto
m	Multipleteo
δ	Desvio Químico

Lista de compostos

Identificação	Estrutura	Páginas	Nome
III.2.1		18; 20; 35	3- <i>N</i> -acetamidil-7-acetil-2-oxo-cumarinilo
III.2.2		18; 36	3-azido-7-hidroxi- cumarinilo
III.2.3		19; 29; 30; 36	Ácido (4,8 – dimetil – 7- <i>O</i> -propagil-3-cumarinil)-3-propanóico
III.3.1		19; 20; 21; 24; 37	Ácido 4-((3-hidroxi-5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1-(2H)-il)tetrahydrofuran-2-il)metoxi)-4-oxobutanóico
III.3.2		21; 38	5'- <i>O</i> - <i>tert</i> -butildimetilsilil-timidina
III.3.3		21; 38	Succinato benzílico de 5'- <i>O</i> -timidina
III.3.4		20; 39	Succinato <i>O</i> -5'-timidinil de polietilenoglicolil2000
III.4.1		22; 27; 30; 39	1,2,3,4,6-penta- <i>O</i> -acetil -D-manopirranose

III.4.2		22; 28; 30; 40	1-bromo-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- α -D-manopiranosose
III.4.3		28; 29; 30; 40	1-azido-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- β -D-manopiranosose
III.4.3A		30; 41	1-azido- β -D-manopiranosose
III.4.4		20; 22; 23; 25; 30; 41	1- <i>O</i> - polietilenoglicolil 2000 - 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- α -D-manopiranosose
III.4.5		23; 30; 42	1- <i>O</i> - tosilato de polietilenoglicolil 2000 - 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- α -D-manopiranosose
III.4.6		20; 24; 30; 43	Succinato de timidinil-3''- <i>O</i> -(1- <i>O</i> -polietilenoglicolil 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- α -D-manopiranosilo
III.4.7		25; 26; 30; 43	Succinato de 3'- <i>O</i> -propargil 1- <i>O</i> -polietilenoglicolil 2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- α -manopiranosose
III.4.8		29; 30; 44	1-[triazolil-2''-(ácido(4',8'-dimetil-7'- <i>O</i> -etil-3'-cumarinil)-3'-propanóico)]-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil- β -D-manopiranosose

I. Introdução

I.1 – Objetivos

Os carboidratos têm um papel essencial em diversos processos biológicos, incluindo comunicação célula-célula, resposta imune, defesa de agentes patogénicos e ainda em carcinogénese. Devido à sua relevância medicinal e biológica, a síntese e desenvolvimento de novas estruturas funcionalizadas tem provado ser uma área em continua expansão, de modo a atingir novos compostos monovalentes ou multivalentes e ainda glicoconjugados.

Em 2016 M. Polakova¹ reportou a síntese de nove derivados de D-manose e o seu impacto na inibição de uma família de enzimas designada por GH38: dGMIIb, dLMII e JBMan.¹ A síntese destes derivados envolveu diversas reações incluindo, benzilação ou tosilação do grupo hidroxilo primário, seguida de benzoilação. O derivado final foi alvo de azidação, que por consequente reação com derivados de alcinos deu origem aos desejados triazoles. Sendo assim, todos os novos conjugados foram preparados usando síntese multi-passos com rendimentos moderados a altos. Os compostos sintetizados foram depois utilizados em diversos ensaios biológicos de modo a averiguar se podiam actuar como inibidores. Concluiu-se então que, os conjugados com benzil e triazole actuam como inibidores selectivos da JBMan.¹

Este é apenas um de muitos exemplos que mostram como a modificação selectiva de derivados de carboidratos e acoplamento a unidades promissoras pode levar à síntese de compostos com relevância medicinal. Assim a síntese deste tipo de compostos tem vindo a provar ser promissora, já que permite o acesso a estruturas que quando devidamente funcionalizadas podem dar origem a compostos com interesse biológico e medicinal.

Os objetivos desta dissertação são:

- Sintetizar novos miméticos de carboidratos com potencial actividade biológica
- Incorporar moléculas com actividade biológica promissora, como timidina e cumarinas
- Incorporar unidades poliméricas (PEG) tendo em vista a sua eventual conversão em nanopartículas, de modo a melhorar a sua biocompatibilidade.

I.2 – A nanotecnologia e a aplicação de nano-fármacos

A nanotecnologia tem gerado um impacto muito significativo em quase todos os aspectos da ciência, envolvendo vários domínios, nomeadamente caracterização, síntese e aplicação devido ao seu pequeno tamanho.² Nos últimos anos, a comunidade científica tem-se dedicado ao desenvolvimento da nanotecnologia para aplicações medicinais ou biológicas.³

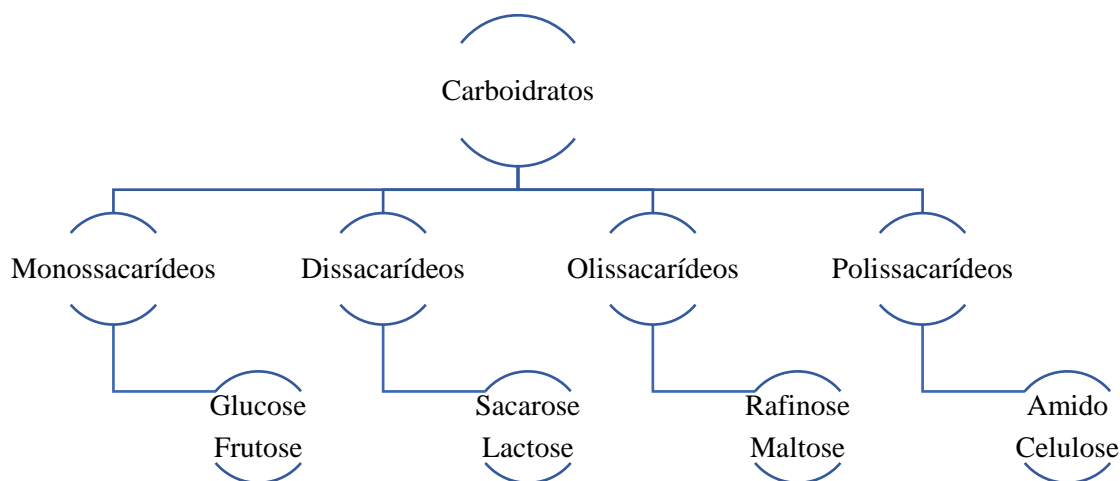
As dimensões nanométricas das ferramentas da nanotecnologia permitem o estudo do mundo celular para um melhor entendimento dos processos biológicos a nível molecular. Um dos maiores desafios deste campo é o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos e *probes* de diagnóstico que assegurem, alta estabilidade, especificidade e baixa toxicidade. Deste modo um sistema terapêutico ideal deve ser efectivo a baixas doses, selectivo e específico. Uma das estratégias para atingir estes requisitos é baseada na conjugação de biomoléculas alvo a nanopartículas.⁴ Estes fármacos ou biomoléculas podem ser incorporados em nanopartículas por aprisionamento ou absorção a sua superfície. A maior vantagem deste tipo de fármacos nano-encapsulados é a sua estabilidade, libertação controlada, biodisponibilidade melhorada, baixa toxicidade bem como efeitos terapêuticos melhorados uma vez que uma maior quantidade do fármaco chega ao alvo.⁵⁻⁷

Grande parte destes bionanomateriais são baseados na conjugação de ácidos nucleicos, péptidos e proteínas a nanopartículas. Entre as biomoléculas, os carboidratos tem um papel importante no reconhecimento e medeiam um grande número de processos biológicos e patológicos.

I.2.1 – Importância dos Carboidratos

Carboidratos (ou hidratos de carbono) são compostos que existem no nosso organismo e tem como função biológica o fornecimento de energia. Está ainda bem estabelecido que os carboidratos têm um papel essencial em diversas funções biológicas, incluindo comunicação célula-célula, resposta imune, defesa de agentes patogénicos e outros.⁸ Devido ao importante papel dos carboidratos em medicina e biologia, o desenvolvimento e síntese de novas estruturas funcionalizadas com as propriedades desejadas é uma área em constante expansão que permite o acesso a uma larga gama de novos compostos monovalentes e multivalentes e ainda de glicoconjugados.¹

Os carboidratos podem ser classificados em monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos (Esquema 1).

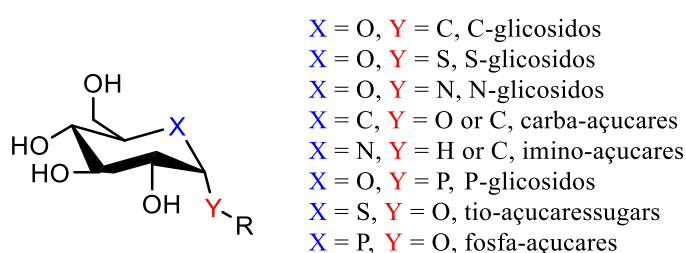


Esquema 1 – Classificação e exemplos de diferentes carboidratos

Os monossacarídeos são os carboidratos mais simples e podem ser classificados de acordo com três características diferentes: a posição do grupo carbonilo, quiralidade e número de carbonos. Sendo que consoante a natureza do grupo carbonilo este pode ser considerado uma aldose (se o grupo carbonilo for um aldeído) ou uma cetose (se o grupo carbonilo for uma cetona). Quanto ao número de carbonos podemos ter ainda trioses, tetraoses, pentoses, consoante o número de carbonos seja três, quatro ou cinco. Por exemplo a manose é uma aldohexose (aldeído com anel com seis carbonos). Os açúcares possuem vários carbonos quirais, com possibilidade de existirem duas configurações em cada (R ou S). A introdução de um centro quiral resulta em estereoisómeros, sendo o número de estereoisómeros 2^n em que n corresponde ao número de centros quirais. Antes da sua estrutura real ser conhecida, todas as pentoses e hexoses tinham nomes triviais e eram caracterizadas pela sua rotação óptica, atribuindo o prefixo (d) ou (+) quando dextrarotatório e (l) ou (-) quando levorotatório.^{9,10}

Os carboidratos são moléculas com interesse medicinal por poderem ser potenciais transportadores de medicamentos (*“drug carriers”*), devido à sua origem natural, inerente biodegradabilidade e biocompatibilidade, bem como devido ao seu carácter hidrofílico e versatilidade química, combinada

com o baixo custo e possibilidade de produção em larga escala.¹¹ Além disso os carboidratos ou miméticos de carboidratos tem vindo a provar ser uma importante classe de agentes terapêuticos, que actuam como fármacos antigripais, anti-inflamatórios, para tratamento da hepatite ou mesmo do cancro. Desta forma existe um esforço por parte dos químicos sintéticos para a modificação de carboidratos, gerando compostos designados como miméticos de modo a aumentar a estabilidade metabólica e química, inserir grupos funcionais que melhorem a interação, como diversos receptores ou enzimas, e permitir a ligação selectiva a outras unidades, como sejam açúcares, proteínas ou suportes sólidos (Esquema 2).¹²

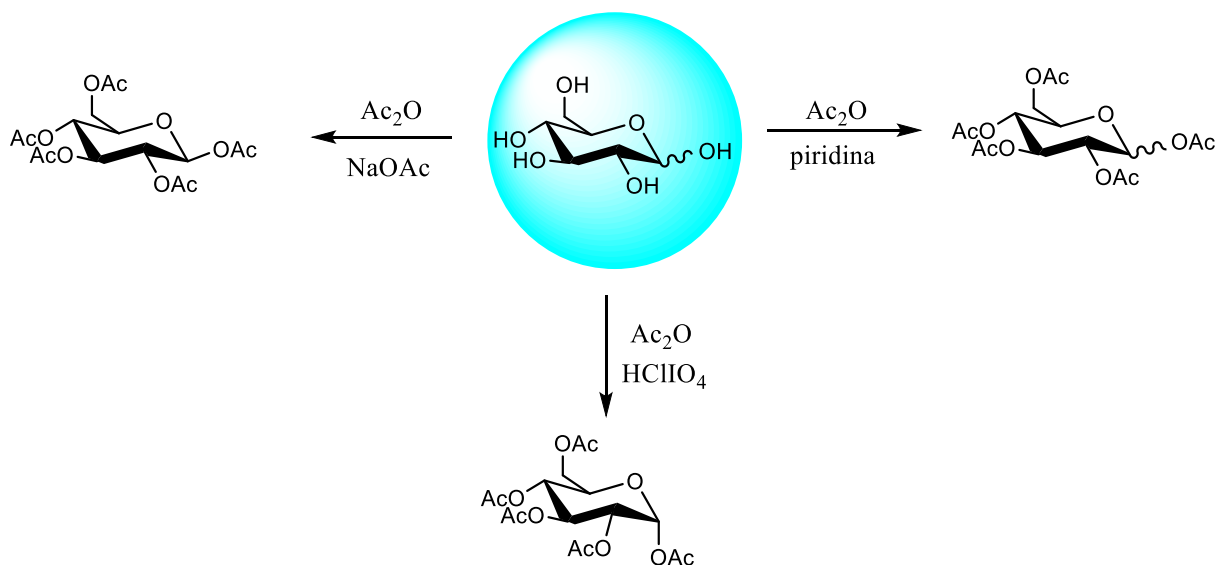


Esquema 2 – Exemplos de derivados comuns de carboidratos¹²

Uma vez que estas moléculas têm interesse medicinal, a comunidade científica tem procurado usar estes compostos como núcleos base que podem ser depois devidamente funcionalizados com diferentes farmacóforos, de modo a gerar compostos bioactivos. O uso de carboidratos como esqueletos base para síntese de bibliotecas de compostos bio-activos foi introduzida por Hirschmann, Nicolau e Amos Smith III em 1992 com a síntese de um peptidomimético que tinha como alvo o receptor da somatostatina,¹³ sendo que a somatostatina é uma hormona que regula a glicemia e modula a secreção de insulina e glucagina.

As reações de acetilação são frequentemente usadas em processos que envolvem carboidratos, por serem facilmente esterificados por reação dos grupos álcool com uma mistura de anidrido acético e uma base. Um método alternativo é o uso de catálise ácida de Lewis.

Em particular as reações que utilizam anidrido acético podem ser feitas utilizando três metodologias diferentes que têm consequências estereoquímicas diferentes para a posição anomérica, podendo o grupo acetilo ficar apenas na posição axial, apenas na equatorial ou sem orientação definida (axial ou equatorial) (Esquema 3).



Esquema 3 - Diferentes metodologias de acetilação e consequente orientação do substituinte no carbono anomérico¹⁰

I.2.1.1 – Manose e a sua relevância sintética

A manose é um dos carboidratos mais utilizados como material de partida na síntese de estruturas com interesse medicinal. Possui um anel de 6 membros e é um epímero em C-2 da glucose, sendo um monossacárido natural. Este pode existir sob a forma de anel de 6 membros (piranose) ou 5 membros (furanose), e cada um destes anéis pode ter ambas as configurações alfa e beta do carbono anomérico (Figura 1).⁹

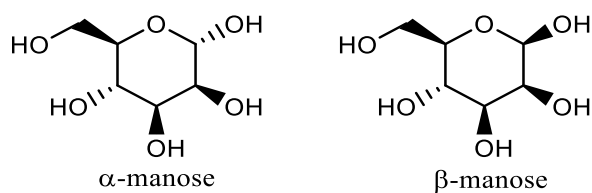
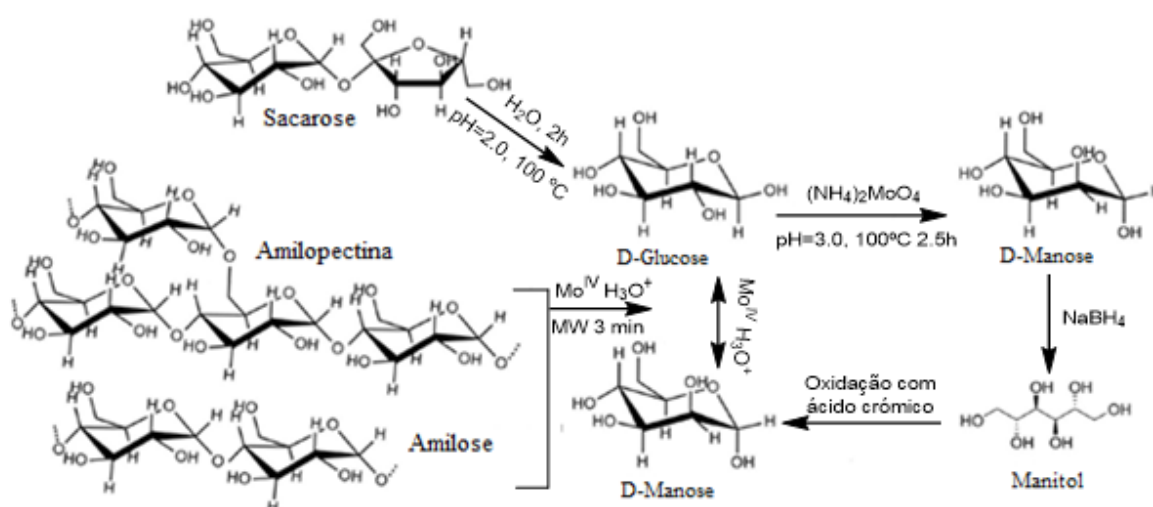


Figura 1 - Estrutura alfa e beta da manose

Diversos processos para a produção de D-manose a partir de D-Glucose já foram estabelecidos através do uso de diversos reagentes químicos, mas ainda assim a temperatura de processamento e concentração de ácido deve ser estritamente controlada. Em 2005 Zhang e colaboradores desenvolveram um método para produção de D-manose a partir de D-glucose por reação de isomerização catalisada por 1% de $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ sob condições ácidas ($\text{pH}=3.0$) a 150°C durante 2h (Esquema 4).¹⁴



Esquema 4 – Exemplificação de métodos sintéticos para produzir D-manose reportado por Zhang.¹⁴

Sob estas condições, a maior taxa de conversão de dextrose atingida foi 32.3%. Em 2003 Liu e colaboradores procederam à hidrólise de sacarose a 100°C durante 2h para obter 50% de D-frutose e 50% de D-glucose. A mistura foi depois tratada com 0.15% de $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ (pH 3.0) a 100°C durante 2.5h. Usando este método, o rendimento de D-manose chegou até aos 30%.¹⁴

Além disso em 2013 Basu e colaboradores reportaram que a D-manose pode ser obtida por oxidação do D-manitol com ácido crômico na presença de um catalisador micelar (SDS, TX-100 e CPC) em meio aquoso. Outro método foi ainda reportado para a preparação de D-manose usando um protocolo de etapa-única envolvendo reação directa assistida por micro-ondas a partir de amido por um processo químico simples. Uma solução de 5% de amido em 0.25M de ácido hidrocloreídico com uma quantidade catalítica de molibdato de sódio foi exposta a irradiação micro-ondas num recipiente selado, o que resultou na rápida hidrólise do amido e subsequente epimerização, o que deu origem uma mistura de D-glucose e D-manose (2:1) em apenas 3 minutos.¹⁵

1.2.2 – Cumarinas: sua síntese e aplicação

As cumarinas são compostos químicos encontrados muitas vezes em plantas e quando devidamente funcionalizadas podem ter diversos efeitos, incluindo anticoagulante, antibiótico, fungicida e broncodilatador. Devido aos seus promissores efeitos terapêuticos e utilidade medicinal, estes compostos têm sido usados pela indústria farmacêutica como precursores na síntese de diversos compostos, incluindo a bem conhecida varfarina (warfarina), um fármaco do grupo de anticoagulantes, que é usado na prevenção de trombozes (Figura 2).¹⁶

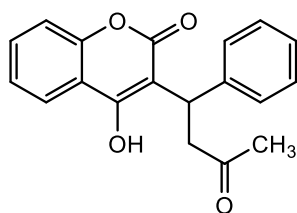
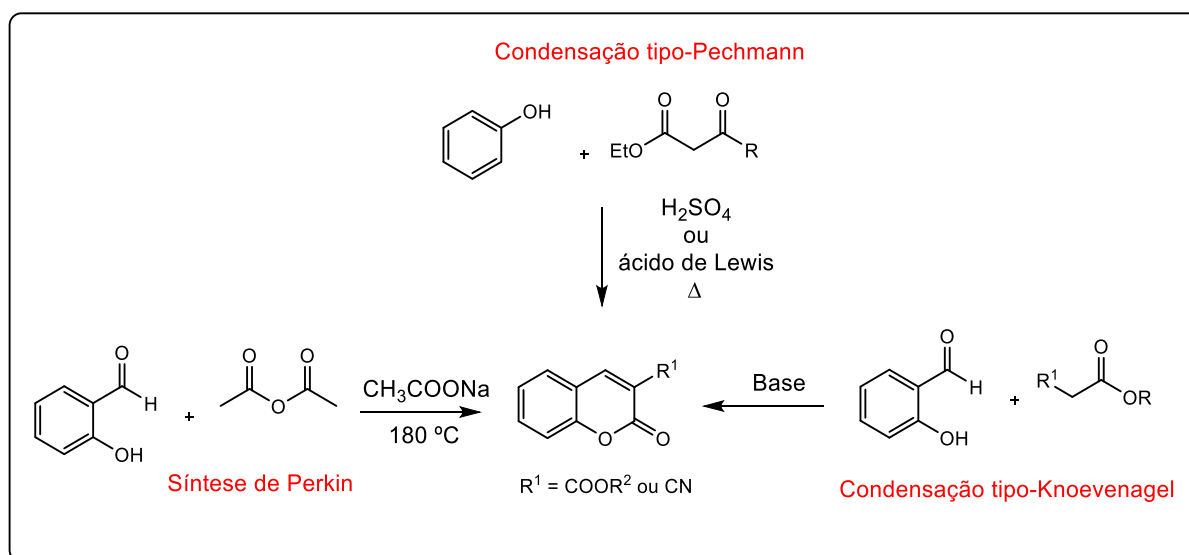


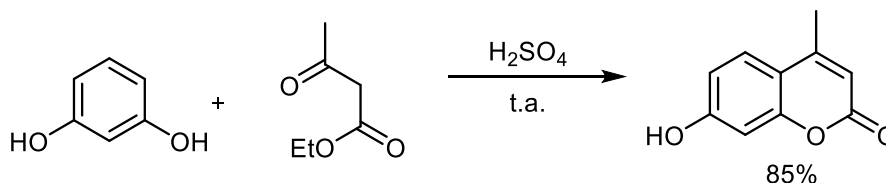
Figura 2 - Estrutura da Varfarina: fármaco anticoagulante

Assim, o interesse medicinal destas estruturas levou ao desenvolvimento de diversas metodologias para síntese destas estruturas destacando-se a síntese de Perkin, a condensação do tipo-Pechmann e ainda a condensação do tipo-Knoevenagel (Esquema 5).¹⁶



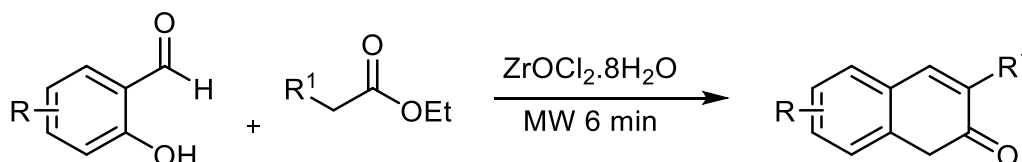
Esquema 5 - Metodologias muito utilizadas na síntese de cumarinas

A condensação tipo-Pechmann é caracterizada pela reação de fenóis com beta-cetoésteres e é realizada utilizando um ácido de Brønstedt forte, como o ácido metanossulfônico ou um ácido de Lewis (por ex AlCl_3) (Esquema 6).



Esquema 6 - Exemplo de condensação tipo Pechmann entre resorcinol e etil acetoacetato.¹⁶

Diversas cumarinas substituídas são sintetizadas a partir de fenóis e etil acetoacetato ou metil acetoacetato via condensação de Pechmann usando um catalisador heterogêneo reciclável ($\text{HClO}_4 \cdot \text{SiO}_2$) sem utilizar solvente. Este método é simples, eficiente e requer pouco tempo de reação. A condensação de Knoevenagel envolve normalmente uma reação entre ácido orgânico e aldeído para dar origem a compostos alfa-beta insaturados. Esta reação pode ser utilizada para a síntese de cumarinas, nomeadamente de cumarinas 3-substituídas utilizando $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (10 mol %) como catalisador em condições de aquecimento por micro-ondas e sem o uso de solvente (Esquema 7).



Esquema 7- Exemplo de condensação de Knoevenagel entre 2-hidroxibenzaldeído e o dietil malonato.¹⁶

Este procedimento tem diversas vantagens incluindo as pequenas quantidades de catalisador, rendimentos altos, não se formarem produtos secundários, baixo tempo de reação e a compatibilidade com diversos substratos, o que faz com que este método seja útil e atractivo para a síntese destas estruturas. Neste caso $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (10 mol %) foi adicionado a uma mistura equimolar de 2-hidroxibenzaldeído e dietilmalonato, e depois a mistura foi aquecida num forno micro-ondas por 6 minutos. Depois do arrefecimento o resíduo foi purificado por coluna cromatográfica e obteve-se o produto puro.¹⁷

A preparação directa de derivados de ácido cinâmico por condensação térmica entre aldeídos aromáticos e anidridos derivados de ácidos carboxílicos alifáticos ou derivados de carboxilos (ex. amida) na presença de um composto básico (que funciona como catalisador) é normalmente

conhecida por reação de Perkin. O uso de carbonatos, acetatos, fosfatos foram reportados como sendo efectivos nesta reação. Para além disso, bases orgânicas fortes como aminas terciárias e piridina são bons catalisadores para a reação de Perkin.¹⁸

I.2.3 – PEG (polietilenoglicol)

PEG (polietilenoglicol) é um polímero solúvel em diversos solventes orgânicos, formado a partir do etileno glicol, e a sua utilização como solvente alternativo ou suporte tem aumentado, uma vez que o PEG está disponível numa larga gama de pesos moleculares (mais usados 200 a 4000) e não-tóxico, barato, termicamente estável e recuperável. A conjugação com polietileno glicol (PEG), conhecida como PEGilação, tem sido uma reação muito utilizada para melhorar a biodisponibilidade de proteínas e fármacos de baixo peso molecular. A conjugação covalente do PEG ao carboidrato de uma proteína tem sido maioritariamente usada para elevar as propriedades farmacocinéticas da proteína ligada.¹⁹

Este polímero composto por unidades repetidas de etileno glicol, as quais podem estar ligadas em estruturas lineares ou ramificadas, originando assim uma larga gama de PEGs, com diversas formas e pesos moleculares (Figura 3).

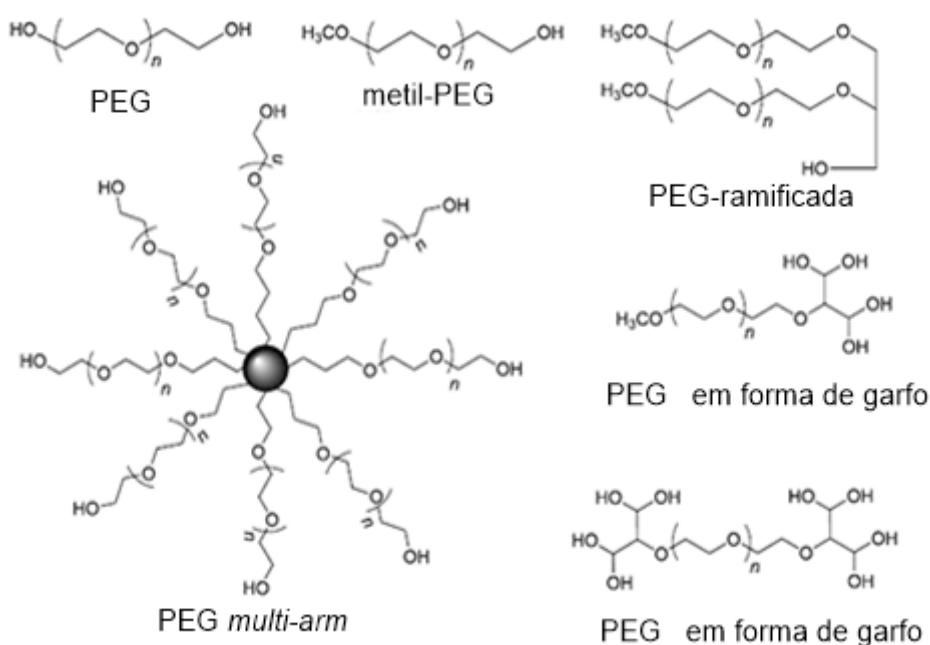
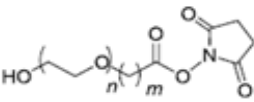
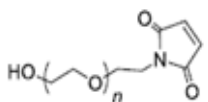
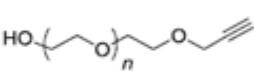
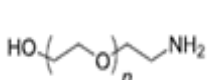
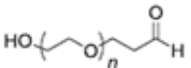
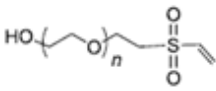
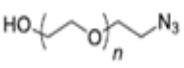
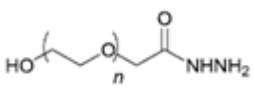
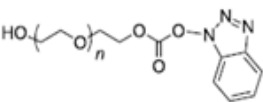
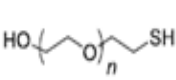
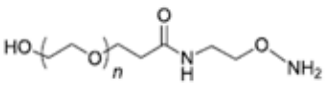
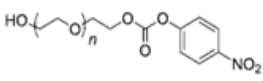


Figura 3 - Diferentes tipos de estruturas de PEG utilizados para derivatização de fármacos e péptidos.¹⁹

Frequentemente, o PEG tem que ser activado para futura conjugação por substituição do grupo OH terminal por outro grupo funcional, o qual sendo mais reactivo vai permitir interagir com outra molécula.

Conjugação de aminas	Conjugação de tióis	Conjugação “click”	Conjugação de carbonilos
 <p>PEG-NHS éster</p>	 <p>PEG-maleimida</p>	 <p>PEG-alcino</p>	 <p>PEG-amina</p>
 <p>PEG-aldeído</p>	 <p>PEG-vinil sulfona</p>	 <p>PEG-azida</p>	 <p>PEG-hidrazina</p>
 <p>PEG- carbonato benzotriazole</p>	 <p>PEG-tiol</p>		 <p>PEG-aminoxi</p>
 <p>PEG-p-nitrofenilcarbonato</p>			

PEG – polietilenoglicol

Tabela 1 - Diferentes PEG activados para conjugação.¹⁹

A tabela acima apresenta diversos exemplos de PEGs activados. PEGs multiramificados tem a vantagem de apresentar diversos sítios para conjugação, e nos conjugados com maior peso molecular, as ramificações estão longe o suficiente uma das outras para permitir interações independentes com o sítio alvo (Tabela 1).¹⁹

I.2.4 – Timidina

Moléculas com estruturas e actividade biológica reconhecidas, tal como fármacos já utilizados em trabalhos anteriores, são moléculas chave para os estudos pretendidos. Um bom exemplo disso é a azidotimidina, fármaco que foi utilizado num dos primeiros testes contra o vírus VIH, sendo utilizada como inibidor da enzima de transcriptase reversa (enzima que polimeriza moléculas de ADN a partir de moléculas de RNA). O facto de conter uma unidade derivada de açúcar, facilita a sua utilização em estudos biológicos devido à sua biocompatibilidade.

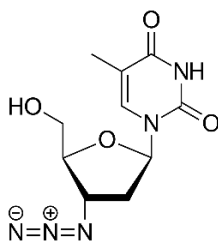


Figura 4 – Estrutura da azidotimidina

Após estes primeiros estudos a utilizar moléculas deste género, surgiram mais compostos derivados da azidotimidina, que provaram ter aplicação e relevância na área (Figura 4).

A timidina (derivado de pirimidina) é constituída por um anel de desoxirribose ligado através de uma ligação glicosídica a uma base azotada (timina).

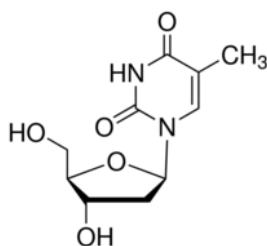


Figura 5 - Estrutura da timidina (derivado de pirimidina)

A desoxirribose, derivada de uma ribose, é uma aldopentose contendo cinco átomos de carbono e um grupo funcional aldeído. Por sua vez, a timina desempenha uma função importante neste tipo de

fármacos, pois representa uma unidade base do nosso DNA, sendo a unidade que é emparelhada com a adenosina na dupla hélice do nosso organismo, o que a torna essencial devido ao elevado grau de biocompatibilidade de possíveis futuras moléculas sintetizadas à sua imagem.

A timidina, também denominada desoxitimidina e que emparelha com desoxiadenosina, é um composto não tóxico presente na cadeia de DNA de organismos vivos (Figura 5). Revela-se um composto interessante para utilização nos campos da biologia celular ou molecular, graças à sua compatibilidade e funções que desempenha no organismo.

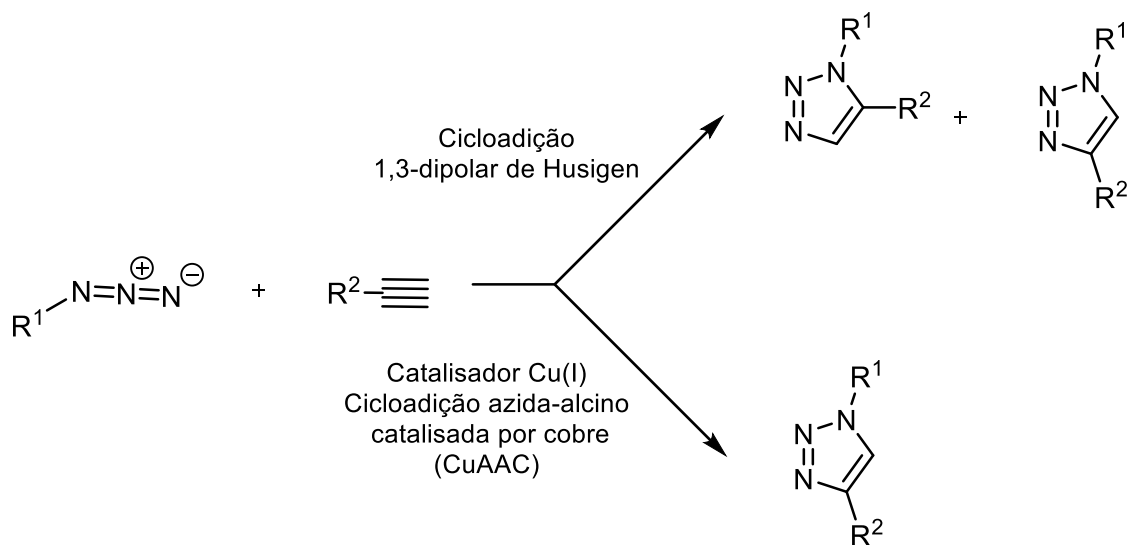
Nos últimos tempos, vários cientistas têm mostrado interesse e estudado a aplicação e exploração da química de nucleosídeos análogos à timidina, principalmente quando aplicada à síntese de compostos com eventual interesse medicinal.²⁰ A reactividade selectiva dos nucleosídeos é complexa devido à, presença de diversos centros nucleofílicos, pelo que é necessário proceder a reacções de protecção e desprotecção, de modo a gerar selectivamente outros compostos pretendidos.

I.2.5 – Triazole

O núcleo de triazole é composto por um anel de 5 membros que possui dois carbonos e três átomos de azoto, estando largamente descrito o seu interesse medicinal. Existem duas formas isoméricas do triazole designadas por 1,2,3-triazole e 1,2,4-triazole.²¹⁻²³

Em especial 1,2,3-triazoles são heterocíclis constituídos por anéis de 5 membros, conhecidos pela sua actividade biológica extensiva.²⁴ Este composto pode ser facilmente obtido, com rendimentos bons a excelentes, através de “click chemistry” usando como materiais de partida haletos de alquilo ou arilo, alcinos e azida de sódio, à temperatura ambiente.²⁵ Esta tem sido uma área de interesse imergente para diversos investigadores devido à sua versatilidade farmacológica.

Sendo assim existem diversos métodos sintéticos para atingir esta estrutura podendo estes serem divididos em duas classes: os que envolvem catálise metálica e os livres de catálise metálica. Um dos métodos mais utilizados para a síntese de sistemas 1,2,3-triazole envolve uma cicloadição dipolar 1,3 conhecida como a cicloadição de Huisgen, que ocorre entre uma azida e um alcino terminal. Esta reacção tem algumas desvantagens, incluindo a baixa regioselectividade, baixos rendimentos e requer elevadas temperaturas (Esquema 8).²⁶



Esquema 8 - Métodos frequentemente utilizados na síntese de triazoles

Outro método para a síntese destas estruturas consiste na reação de cicloadição azida-alcino catalisada por cobre (I) (CuAAC). Esta reação de “click chemistry” foi inventada por Sharpless resultando na produção em larga escala de 1,4-di-substituídos 1,2,3-triazoles, com rendimentos muito elevados.^{27,28} Durante os últimos anos, novas metodologias sintéticas foram ainda desenvolvidas o que possibilita o acesso a diversos derivados com interesse medicinal.

I.3 – Métodos de análise

I.3.1 – Espectroscopia de Infravermelho

A radiação infravermelho refere-se sobretudo à parte do espectro electromagnético entre a região da luz visível e das microondas. Esta técnica de espectroscopia é muito útil e prática em química orgânica, em particular a região entre os 4000 e os 400 cm^{-1} . A espectroscopia IV é uma técnica não dispendiosa e relativamente rápida que permite detectar as vibrações das ligações de certos grupos funcionais através da absorção do comprimento de onda da radiação IV produzida através da interação com a matéria.

Embora o espectro de IV seja característico de toda a molécula, é verdade que alguns grupos funcionais dão origem a bandas com igual ou semelhante frequência, independentemente da estrutura do resto da molécula. São estas bandas características que permitem obter informação estrutural através de uma análise simples e recorrendo a tabelas e gráficos generalizados com frequências características dos grupos funcionais.

Os espectros de IV são utilizados em conjunto com outros dados espectrais para determinar a estrutura molecular. Serve de apoio à análise obtida por RMN.

I.3.2 – Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear

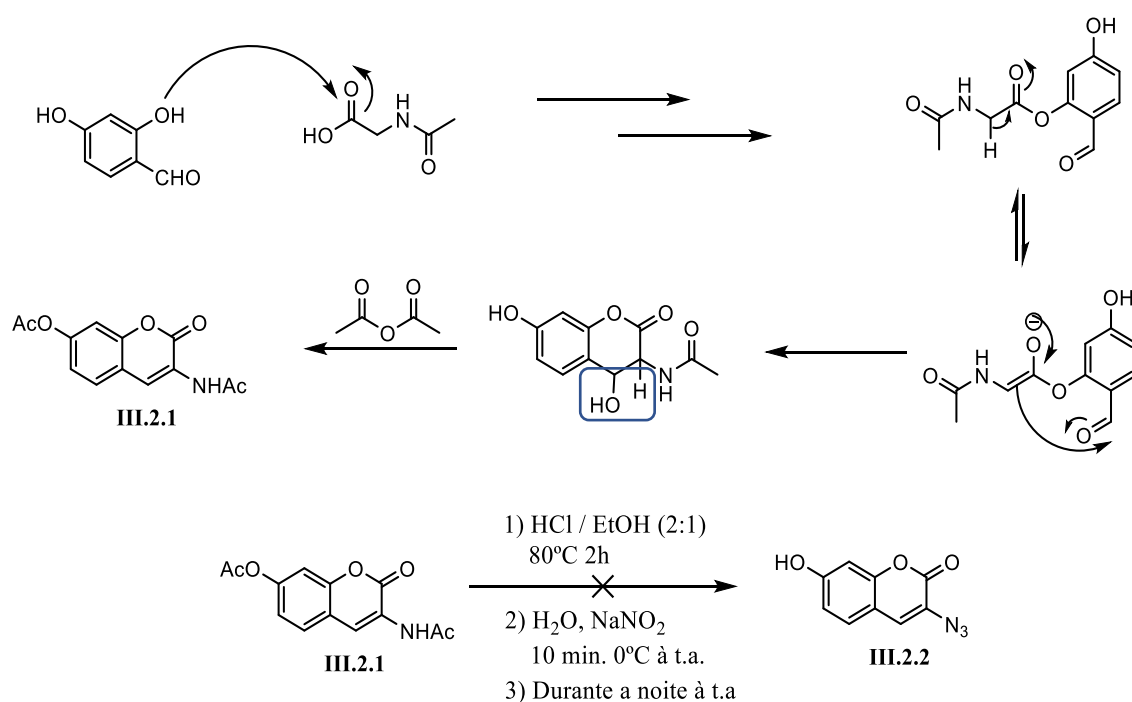
A ressonância magnética nuclear é uma técnica de análise estrutural que tem por base as propriedades magnéticas de certos núcleos presentes na molécula, como os núcleos dos isótopos de hidrogénio e carbono. Esta técnica é basicamente outra forma de espectroscopia de absorção que tem por base as transições entre os níveis energéticos incitadas pela absorção da radiação electromagnética na região das radiofrequências.

É uma ferramenta de análise muito benéfica por fornecer informações sobre o ambiente químico dos prótons e carbonos presentes num determinado composto, dando origem a espectros mono e bidimensionais. É uma técnica não destrutiva, para uma análise necessita de pouca quantidade de composto (entre 5 a 20 mg) num solvente deuterado que consiga dissolver a amostra. O RMN permite-nos obter uma maior quantidade de informação estrutural do que o IV.

II. Resultados e discussão

II.1 – Funcionalização de cumarinas

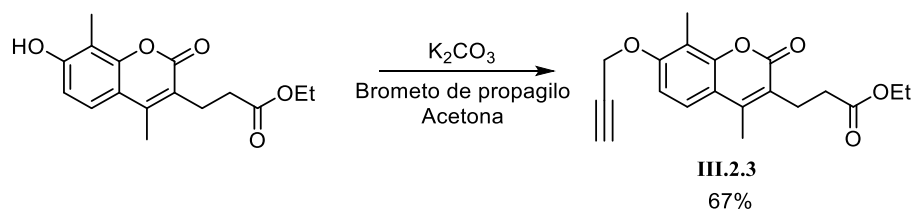
Um dos primeiros passos deste trabalho envolveu a síntese e funcionalização de cumarinas. Deste modo, utilizando como material de partida 2,4-dihidróxi benzaldeído e acetilglicina em anidrido acético tentou-se sintetizar o composto **III.2.1** (Esquema 9).



Esquema 9 – Vias sintéticas possíveis para as coumarinas **III.2.1** e **III.2.2**

Esta reação é caracterizada pelo ataque do grupo hidroxilo ao grupo carboxilo da acetilglicina, com posterior ciclização intramolecular. Após análise por TLC esta reação parecia completa e por isso evaporou-se a mistura à secra procedeu-se ao seu tratamento.

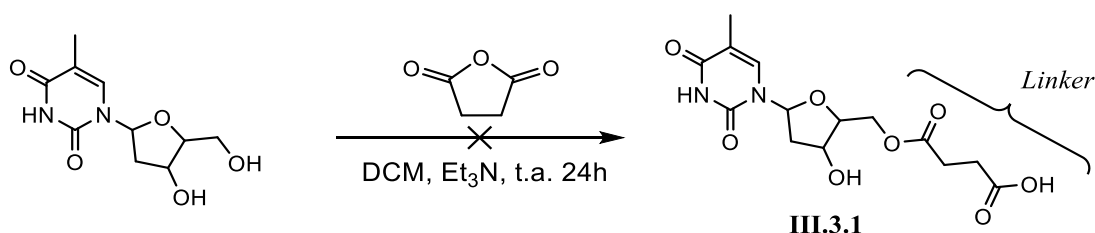
Uma vez que não foi possível isolar o produto pretendido, tentou-se explorar outras vias sintéticas para atingir estes compostos. Inicialmente, utilizou-se ácido (4,8 – dimetil – 7-hidroxil -3-cumarinil)-3-propanóico como material de partida numa reação com carbonato de potássio e brometo de propargilo de modo a originar uma coumarina que possuísse um alcino na sua estrutura (Esquema 10).



Esquema 10 – Síntese da cumarina **III.2.3** a partir de ácido (4,8 – dimetil – 7-hidroxil -3-cumarinil)-3-propanóico

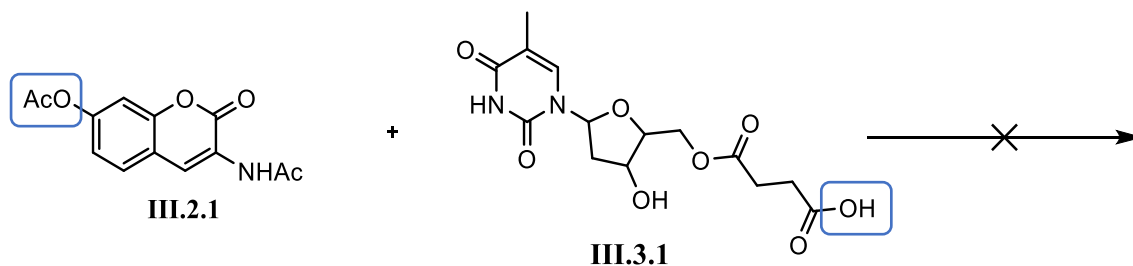
II.2 – Funcionalização de timidina

A timidina é uma molécula derivada da base azotada timina e apresenta um enorme potencial a nível de síntese de unidades com interesse medicinal. Deste modo, este trabalho focou-se também na síntese e funcionalização de compostos com timidina. Inicialmente tentou-se fazer reação entre timidina e anidrido succínico, sendo este atacado pelo álcool primário da timidina, formando uma espécie de *linker* que iria ser usado posteriormente (Esquema 11).



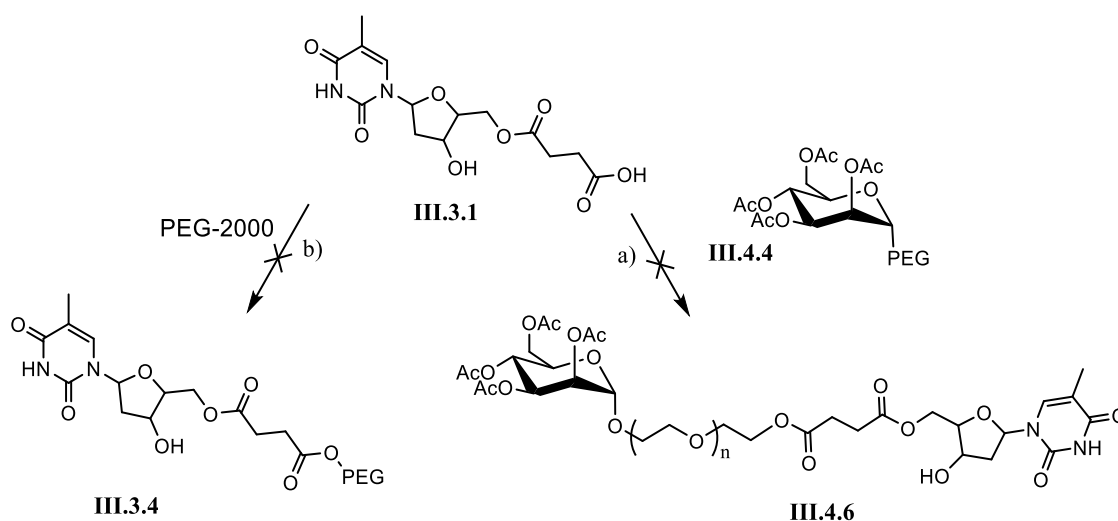
Esquema 11 – Tentativa de síntese do derivado de timidina **III.3.1** utilizando anidrido succínico

Admite-se que, uma vez que a timidina não estava protegida esta reação não foi bem-sucedida, já que houve formação de uma mistura de produtos. Isto deveu-se ao facto de a timidina possuir na sua estrutura um álcool primário e um secundário, que podem levar à formação de produtos secundários, através dum processo competitivo. Ainda assim, este composto foi utilizado em diversas reacções de modo a testar diversas vias possíveis para a síntese de compostos com interesse biológico.



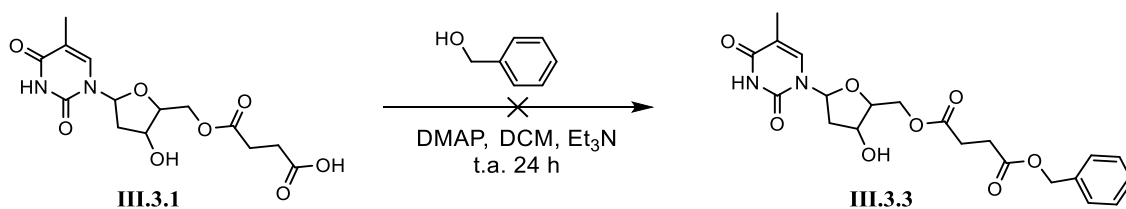
Esquema 12 – Tentativa de reação entre o derivado de timidina e a cumarina **III.2.1**

A primeira via envolveu reação entre o composto **III.3.1** e a cumarina **III.2.1**. Esta reação não foi bem sucedida, não se observando formação do produto desejado, mas sim de uma mistura complexa não identificada (Esquema 12).



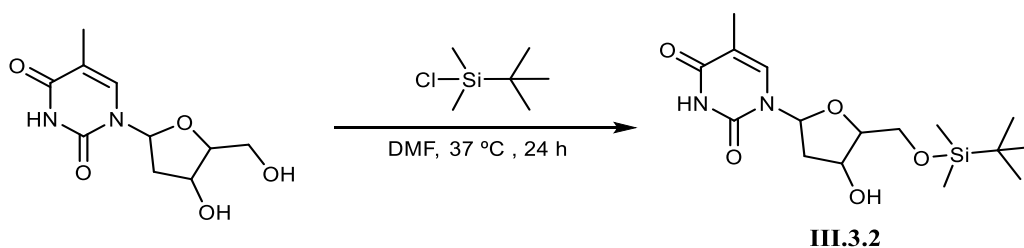
Esquema 13 – Tentativa de síntese de derivados PEGilados a partir da timidina **III.3.1**

Paralelamente, tentou-se a reação entre o compostos **III.3.1** com PEG-2000 e também com o composto PEGilado **III.4.4**. Esta aproximação provou ser complicada, uma vez que apesar de diversos esforços de purificação não foi possível isolar o composto pretendido (Esquema 13). Desta forma, chegou-se à conclusão que não só a reatividade desta molécula foi complicada, bem como a sua detecção por TLC, devido a ser invisível (não detectável) à luz UV.

Esquema 14 – Tentativa de reação de benzilação do derivado **III.3.1**

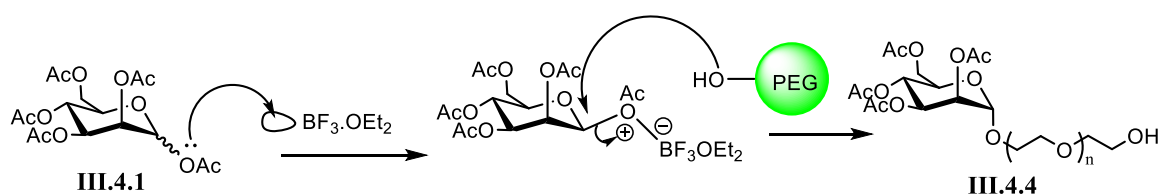
Perante este resultado, tentando perceber se o material de partida sintetizado anteriormente (**III.3.1**) estava puro e não se tinha degradado, fez-se reagir o mesmo com álcool benzílico, sendo esta uma reação simples de esterificação que iria permitir a este composto ser mais facilmente identificável por TLC (Esquema 14). Após análise da TLC verificou-se que apesar do álcool benzílico apresentar fluorescência, não foi possível isolar o composto pretendido, muito provavelmente porque o composto **III.3.1**, possui um grupo álcool (secundário), o que deu origem a uma série de produtos laterais.

Posteriormente, optou-se por outra via, que envolveu a proteção da timidina com TBDMSCl. Esta reação envolvia o ataque do álcool primário ao átomo de silício com saída de íão cloreto. Esta reação foi bem sucedida através da análise da TLC, mas isolar o composto desejado demonstrou-se complicado (Esquema 15).

Esquema 15 – Síntese do composto **III.3.2** através de proteção com TBDMSCl

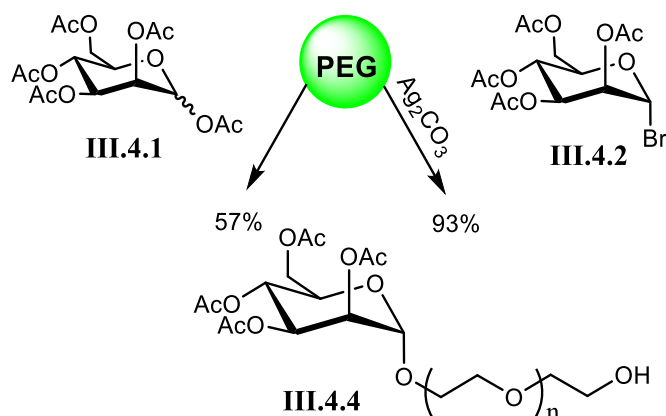
II.3 – Síntese de unidades de carboidratos usando PEG-2000 como suporte polimérico solúvel

Este trabalho permitiu ainda explorar o papel do PEG-2000 enquanto suporte polimérico, visto este estar relacionado com o aumento da biocompatibilidade e sustentabilidade de diversos métodos sintéticos. A primeira aproximação envolvendo PEG-2000 passou pelo uso do açúcar acetilado **III.4.1** como unidade de acoplamento e tratamento com $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$. Esta não foi eficaz, dando origem ao produto com rendimento moderado, muito provavelmente devido ao carácter pouco nucleofílico dos grupos hidroxilo presentes no PEG (Esquema 16).



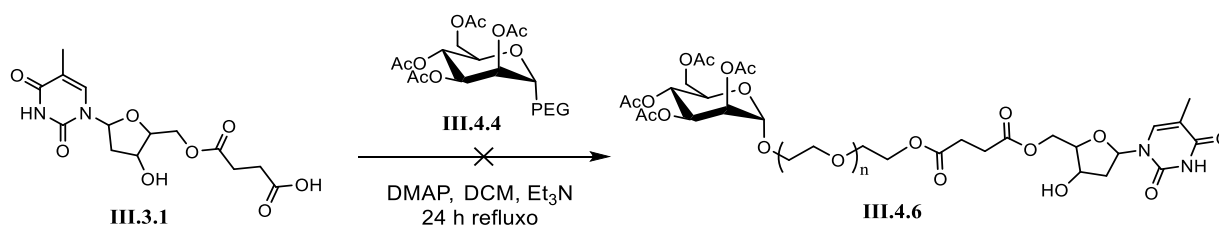
Esquema 16 - Mecanismo proposto para a formação do derivado PEGilado a partir de manose acetilada

Desta forma era necessário formular uma nova abordagem que permitisse o acoplamento dando origem ao produto com melhores rendimentos. Assim optou-se por utilizar o açúcar bromado **III.4.2** que foi acoplado ao PEG-2000, utilizando Ag_2CO_3 como base, com 93% rendimento, sendo esta reação mais favorável devido ao facto do bromo ser um bom grupo de saída, facilitando o ataque nucleofílico por parte dos grupos hidroxilos presentes no PEG (Esquema 17).



Esquema 17 - PEGilação de carboidratos através do derivado **III.4.1** e **III.4.2**

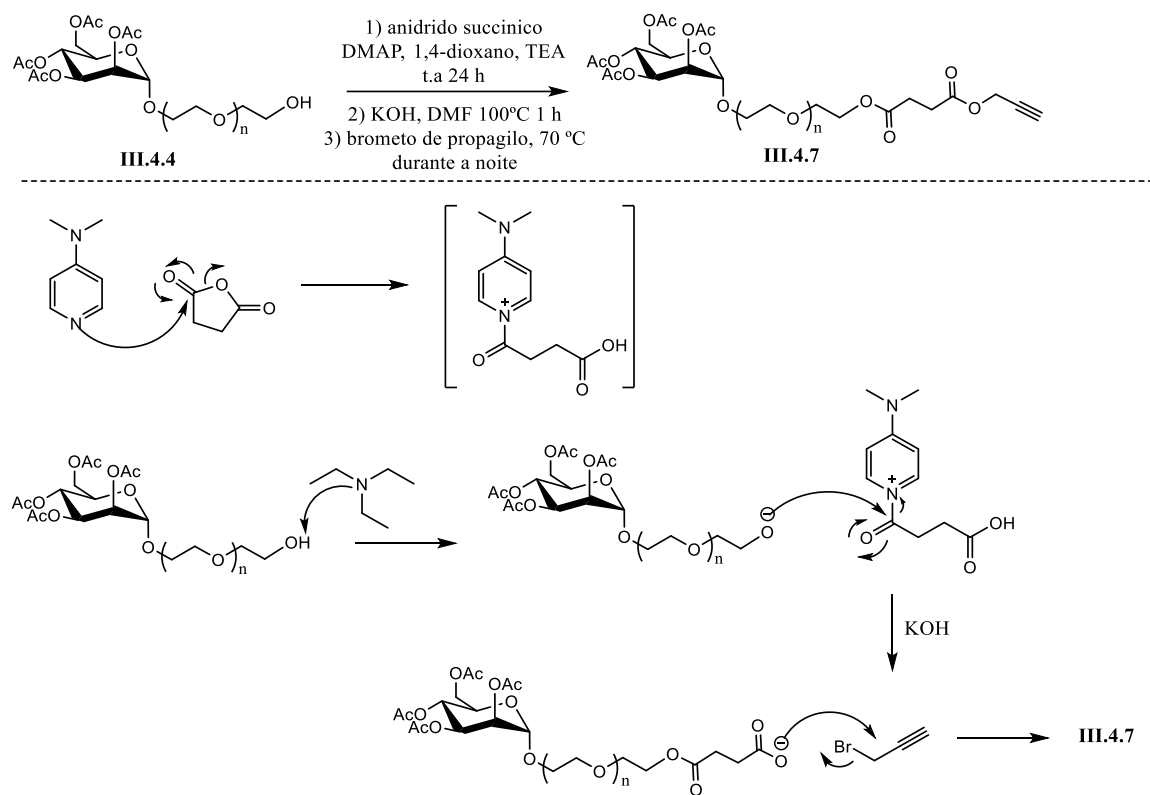
Assim tratou-se o composto **III.4.4** com cloreto de tosilato e confirmou-se a formação do derivado tosilado por TLC (Esquema 18). No entanto, formou-se uma mistura complexa, não sendo possível prosseguir com esta aproximação (por dificuldade de purificação), tendo-se optado por outra via a partir do composto PEGilado **III.4.4**.



Esquema 19 - Acoplamento do açúcar PEGilado ao derivado de timidina **III.3.1**.

Para isso tentou-se acoplar o composto PEGilado **III.4.4** ao derivado de timidina **III.3.1**, mas esta reação não resultou dando origem a uma mistura complexa, muito provavelmente devido facto da timidina se apresentar desprotegida, dando origem a diversos compostos laterais (Esquema 19).

Outra abordagem foi efectuada utilizando o composto **III.4.4** e anidrido succínico de forma a originar um derivado que foi depois tratado com brometo de propagilo e carbonato de potássio com vista a obter o composto **III.4.7** (Esquema 20).



Esquema 20 – Possível mecanismo na reação de acoplamento, seguida de adição de brometo de propargilo para formação do derivado **III.4.7**

Através da análise do ^1H -RMN é possível identificar os sinais correspondentes aos CH_2 da PEG entre 3.80 e 3.43 ppm, aos CH_3 dos grupos acetato entre 2.13 e 1.97 ppm, o CH da tripla a 2.66 ppm e os sinais dos CH_2 do anidrido a 2.95 ppm e 2.87 ppm (Figura 7).

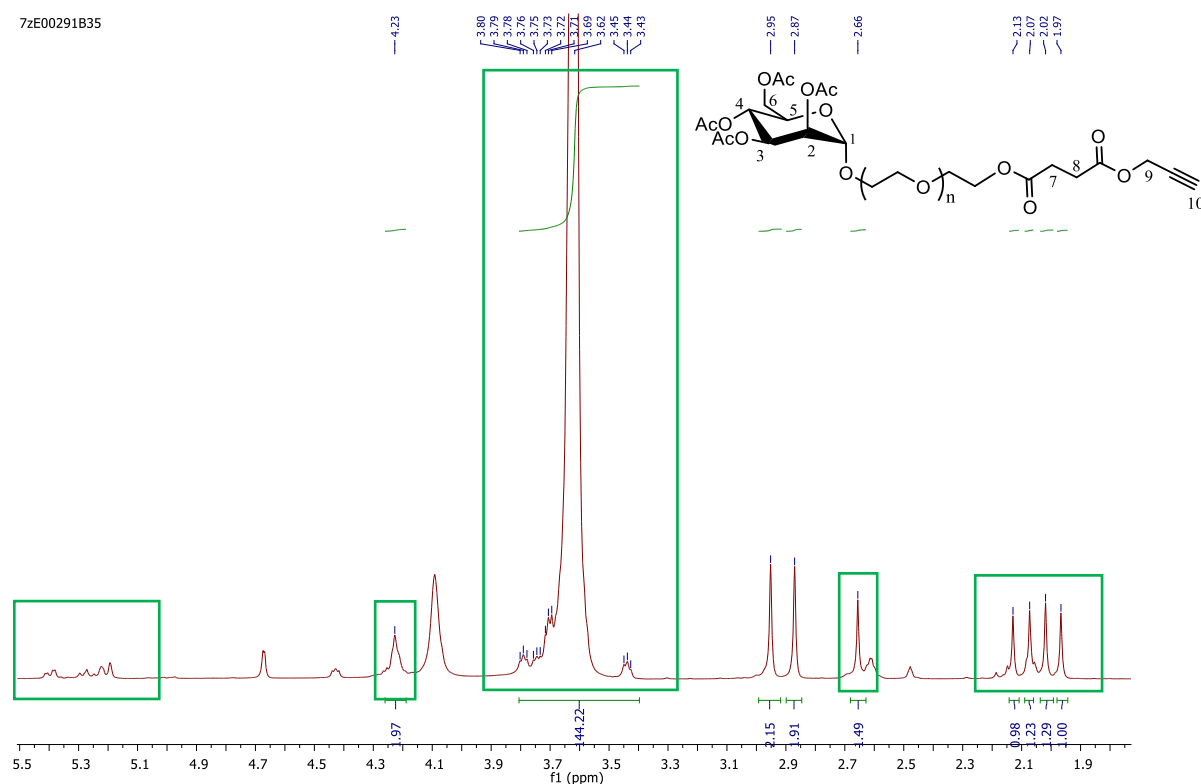
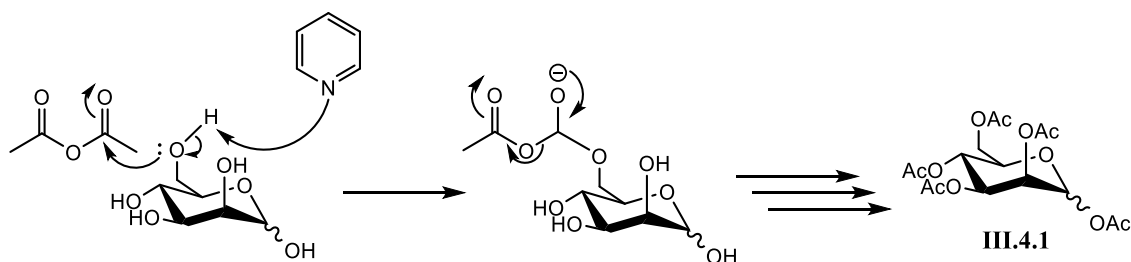


Figura 7 – Espectro de ^1H -RMN do composto **III.4.7** em CDCl_3 .

II.4 – Derivatização da manose

O objetivo inicial desta dissertação era então sintetizar derivados de carboidratos, neste caso usando como material de partida a manose de modo a obter compostos versáteis que pudessem depois ser acoplados a moléculas com relevância medicinal, ou mesmo moléculas com capacidade de actuar como sondas fluorescentes.

Sendo assim a primeira abordagem foi utilizar manose como precursor para síntese de glico-macromoléculas. A primeira reação envolvia a acetilação da molécula utilizando anidrido acético em piridina. Esta é uma das reações mais utilizadas na funcionalização de carboidratos visto que permite proteger todos os grupos hidroxilo de forma eficaz, e com altos rendimentos e o grupo acetilo é ainda de fácil remoção (Esquema 21).



Esquema 21 - Reação de acetilação da manose

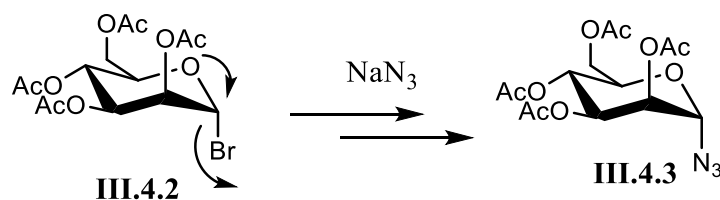
Esta reação envolve a desprotonação de todos os grupos hidroxilos da manose, utilizando piridina como base, para depois haver o ataque ao carbono do anidrido ficando estes protegidos com o grupo acetilo. Esta reação acontece primeiro no álcool primário e só depois nos álcoois secundários presentes na manose. Sendo assim foi possível obter o açúcar acetilado **III.4.1** com rendimento quantitativo (93%).

A formação deste derivado foi confirmada por espectroscopia de infravermelho e RMN. Ao analisar o espectro de IV foi possível identificar o aparecimento de uma banda a 1751cm^{-1} característica do grupo carboxilo de um éster como o que existe no grupo acetato.

Após análise do espectro de ^1H -RMN é possível identificar os sinais correspondentes ao grupo CH_2 e CH entre 5.52 e 4.02 ppm e aos CH_3 dos grupos acetato entre 2.20 e 2.09 ppm.

^1H-RMN	5.52 – 5.47 (m, 1H), 5.38 – 5.24 (m, 2H), 5.14 (dd, $J = 10.0, 3.3$ Hz, 1H), 4.30 (ddd, $J = 12.3, 10.4, 5.1$ Hz, 1H), 4.19 – 4.02 (m, 2H), 2.20 (s, 1H), 2.16 (d, $J = 3.2$ Hz, 2H), 2.09 (s, 1H)
------------------------------------	--

De seguida, esta molécula foi utilizada para formação de um composto bromado, que iria depois ser utilizado em diversas reações de funcionalização de acoplamento. Assim o composto **III.4.1** foi tratado com HBr 33% em AcOH de modo a originar o composto bromado apenas na posição anomérica, já que esta é a posição mais reactiva da molécula, ficando o bromo na posição axial (**III.4.2**).



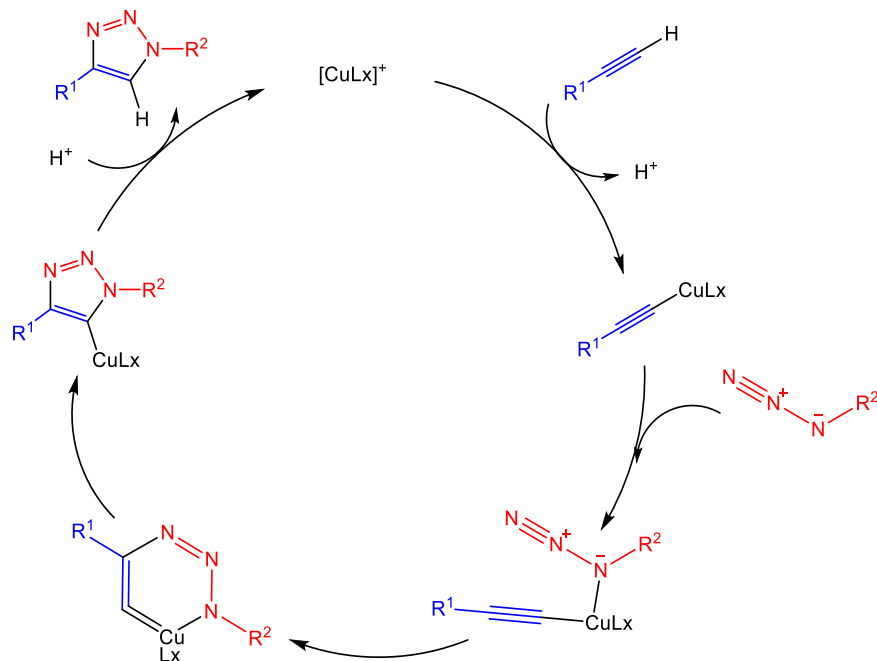
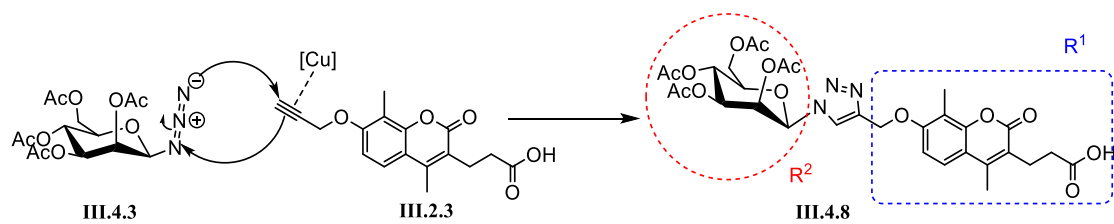
Esquema 22 - Reação de azidação de manose bromada

Por fim o composto bromado foi utilizado numa via que envolvia a síntese de um derivado com grupo azida que depois por reação com o alcino desejado iria originar um derivado de triazole. Assim, o composto **III.4.2** foi tratado com azida de sódio originando o composto com grupo azida **III.4.3** com 73 % de rendimento (Esquema 22).

De modo a confirmar a formação deste derivado com grupo azida, espectros de ^1H -RMN e ^{13}C -RMN foram efectuados. Após análise é possível observar os sinais correspondentes aos CH ligados ao grupo acetato a e o CH ligado ao grupo azida a 5.44, 5.25, 5.04 ppm e entre 3.78ppm. Também é possível distinguir um multipeto entre 4.20-4.18 ppm correspondente ao CH₂ ligado ao grupo acetato, bem como os sinais dos grupos CH₃ desta molécula entre 2.20 ppm e 1.98 ppm.

^1H -RMN	5.44 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 5.25 (t, $J = 10.0$ Hz, 1H), 5.04 (dd, $J = 10.1, 3.1$ Hz, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.30-4.18 (m, 2H), 3.78-3.74 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.98 (s, 3H)
^{13}C -RMN	169.96 (s), 85.11 (s), 74.62 (s), 70.95 (s), 69.23 (s), 65.34 (s), 62.14 (s), 20.73 (s).

Uma vez formado este precursor podíamos agora fazê-lo reagir com um alcino terminal de forma a dar origem ao promissor triazole. Para isso foi sintetizado um derivado de cumarina, já que estas moléculas podem ser utilizadas em química medicinal como marcadores fluorescentes. Desta forma o composto **III.2.3**, que foi sintetizado de modo a originar um derivado de alcino com propriedades fluorescentes, foi utilizado numa reação com o derivado **III.4.3**, de forma a poder originar o derivado de triazole **III.4.8** (Esquema 23).

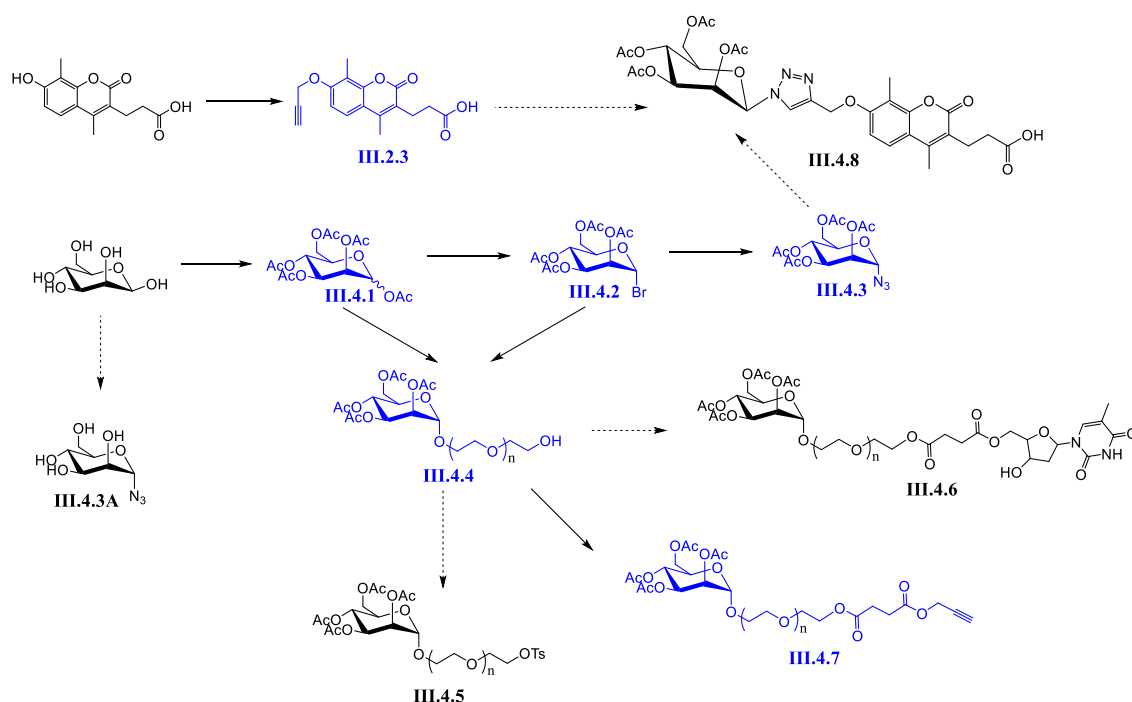


Esquema 23 - Ciclo catalítico proposto para a reação de CuAAC.²⁹

Após análise do ¹H-RMN concluiu-se que não foi possível isolar o composto desejado, tendo-se obtido uma mistura complexa, de difícil identificação.

II.5 – Considerações finais

Em suma, a modificação selectiva de derivados de carboidratos e acoplamento a unidades promissoras, como os derivados de cumarina e timidina, pode levar à síntese de compostos com relevância medicinal. Assim a síntese deste tipo de compostos pode ser promissora, já que permite o acesso a estruturas que quando devidamente funcionalizadas podem dar origem a compostos com interesse biológico e medicinal.



Esquema 24 - Resumo da síntese de novas glico-macromoléculas

Concluindo, foi possível sintetizar alguns derivados versáteis de carboidratos, incluindo manose acetilada e manose com grupo azida. A incorporação de unidades poliméricas (PEG) envolveu inicialmente a síntese de dois derivados de manose, um com grupos acetilo (**III.4.1**, 93%) e um com um bromo na posição anomérica (**III.4.2**, 83%). Estes dois substratos foram depois tratados de maneira distinta de modo a ser possível realizar a reação de acoplamento com o PEG. O composto **III.4.1** foi tratado com $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ e deu origem ao substrato PEGilado (**III.4.4**) com 57 % de rendimento. Uma vez que esta reação não foi muito eficiente procedeu-se a síntese do derivado **III.4.2** que foi depois tratado com Ag_2CO_3 para dar origem ao mesmo derivado PEGilado (**III.4.4**) com 93 % de rendimento.

De seguida testou-se a funcionalização desta nova unidade polimérica, sendo possível sintetizar o derivado **III.4.7**, succinato de 3'-*O*-propargil 1-*O*-polietilenoglicolil 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -manopiranoose, com 74% de rendimento. Assim, estes substratos são promissores, já que apresentam a possibilidade de conversão em nanopartículas de modo a melhorar a sua biocompatibilidade. É ainda importante referir que na incorporação de moléculas promissoras, foi possível sintetizar um derivado de cumarina a partir de ácido (4,8 – dimetil – 7-hidroxil -3-cumarinil)-3-propanóico, que foi posteriormente tratado com brometo de propargilo de modo a dar origem ao derivado **III.2.3**, ácido (4,8 – dimetil – 7-*O*-propargil-3-cumarinil)-3-propanóico, com 67 % de rendimento.

No entanto, a pretensão de obter derivados de timidina também não foi bem sucedida. Admite-se que visto ser uma molécula com vários grupos reactivos pode conduzir a produtos não pretendidos. De modo a tentar ultrapassar estes problemas, será necessário recorrer a uma protecção prévia selectiva, de modo a impedir a formação de produtos laterais aquando da sua funcionalização.

III. Parte experimental

III.1 – Prêambulo

A componente experimental deste trabalho envolveu o recurso a procedimentos gerais em laboratório descritos de seguida:

Todos os reagentes comerciais utilizados na síntese dos compostos indicados foram fornecidos pela Sigma-Aldrich e Pronalab.

Todos os solventes utilizados foram previamente secos ou destilados seguindo os procedimentos descritos na literatura.

- Dimetilformamida (DMF): Juntou-se BaO ou sílica ao DMF e deixou-se a agitar em atmosfera inerte de um dia para o outro. Filtrou-se a mistura e o DMF foi destilado a pressão reduzida. Armazenou-se o solvente em garrafa de vidro escuro, sob atmosfera de árgon e contendo peneiros moleculares de 3 Å previamente activados a 300°C.

- Diclorometano (DCM): O diclorometano foi aquecido em refluxo na presença de hidreto de cálcio durante uma hora antes de cada utilização. Foi, de seguida, recolhido numa ampola e transferido para o balão reaccional com uma seringa.

- Tetrahidrofurano (THF): Foram adicionados fios de sódio e benzofenona num balão com THF. A solução foi aquecida a refluxo sob atmosfera inerte durante algumas horas, até que o solvente ficou com uma cor profundamente azul, indicativa de ausência de água. Destilou-se o volume desejado, que foi recolhido numa ampola e transferido com uma seringa para o balão reaccional.

Para pesagens de reagentes e produtos utilizou-se uma balança de marca Sartorius BL210S com 4 casas decimais e com uma precisão de $\pm 0,1$ mg. Todas as síntese foram realizadas sob agitação constante e atmosfera de árgon. As reacções foram controladas através de cromatografia de camada fina (c.c.f.) utilizando placas de sílica gel 60g/UV254nm Macherey-Nagel com 0,20mm de espessura em suporte de alumínio. Após a eluição as placas foram observadas sob luz ultravioleta num comprimento de onda de 365nm (*Camag*) e revelados em soluções como: ácido sulfúrico em metanol; permanganato de potássio; e ácido fosfomolibdico em etanol.

A purificação dos compostos foi realizada por cromatografia em coluna (c.c.) utilizando sílica gel Carlo Erba (40-63 μ m) ou cromatografia em camada preparativa (c.c.p.) usando-se a sílica gel com indicador UV254nm com espessura de 1 mm.

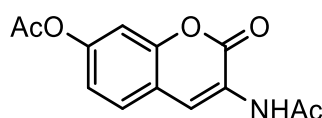
Para medições de ponto de fusão dos compostos recorreu-se ao aparelho Electrothermal Melting Point Apparatus.

Os espectros de infravermelho (IV) foram traçados num espectrómetro Bruker, modelo Tensor 27 e tratados no software OPUS 6.0. As análises foram efectuadas em células de cloreto de sódio (NaCl). Na descrição das sínteses são apresentadas as bandas mais intensas e características de cada espectro, os dados estão apresentados na seguinte ordem: suporte da amostra, frequência do máximo de absorção (ν_{max} em cm^{-1}), tipo de banda (f- forte, m- média, fr- fraco) e a atribuição do grupo funcional na molécula (quando possível).

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) foram obtidos num espectrómetro Bruker ARX (400 MHz para ^1H e 101 MHz para ^{13}C). Os desvios químicos (δ) são expressos em ppm. Os dados obtidos para os espectros de protão são apresentados na seguinte ordem: solvente deuterado utilizado, desvio químico de cada sinal, intensidade relativa, multiplicidade de spin (s- singleto; d- duplete; triplete; m- multiplete; dd- duplete de duplete), constante de acoplamento (J , em Hz) e atribuição na molécula (quando possível). Os dados dos espectros de carbono são apresentados na seguinte forma: solvente deuterado, desvio químico e atribuição na molécula em estudo (quando possível). Como referência interna utilizou-se o tetrametilsilano (TMS) no caso do clorofórmio deuterado (CDCl_3), a água no caso do óxido de deutério (D_2O), e dimetilsulfóxido no caso do dimetilsulfóxido hexa-deuterado (DMSO-d_6).

III.2 – Síntese de cumarinas funcionalizadas

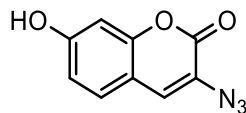
III.2.1 – Síntese de 3-*N*-acetamidil-7-acetil-2-oxo-cumarinilo



III.2.1

Dissolveu-se 2,4-dihidróxi benzaldeído (1,40 g, 10,1 mmol) e acetilglicina (1,18 g; mmol; 1,0 equiv.) em anidrido acético (5 mL). De seguida adicionou-se acetato de sódio anidro (3,32 g; mmol; 4,0 equiv.) e deixou-se a mistura reacional sob agitação durante 4.5 h, a 160 °C. A reacção foi controlada por c.c.f. utilizando Hexano:AcOEt (1:1). Após consumo de todo o material de partida, a mistura reacional foi evaporada à securo e usada na transformação seguinte.

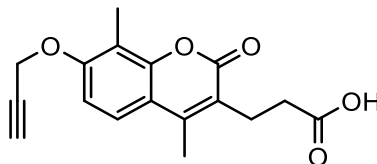
III.2.2 – Tentativa de síntese de 3-azido-7-hidroxi- cumarinilo



III.2.2

Dissolveu-se o composto 3-N-acetamidil-7-acetil-2-oxo-cumarinilo (**III.2.1**) (1,69g; mmol; 1,0 equiv) em HCl / Etanol (2:1) (15 mL) e deixou-se a agitar a 80 °C durante 2 h. De seguida adicionou-se H₂O gelada (20 mL) e colocou-se a mistura sob banho de gelo, adicionando-se depois nitrito de sódio (0,89 g; 2,0 equiv). Por fim deixou-se a mistura reacional sob agitação durante 10 min mantendo o banho de gelo, adicionando-se em seguida azida de sódio (1,30 g; 3,0 equiv). A mistura ficou sob agitação durante a noite à temperatura ambiente. A reacção foi controlada por c.c.f. utilizando Hexano:AcOEt (1:1). Por fim filtrou-se a mistura e lavou-se com água. Não foi possível isolar o composto pretendido

III.2.3 – Síntese de ácido (4,8 – dimetil – 7-O-propagil-3-cumarinil)-3-propanóico



III.2.3

Num balão adicionou-se o composto ácido (4,8– dimetil– 7-O-propagil-3-cumarinil)- 3-propanóico (0,82 g; mmol; 1 equiv), K₂CO₃ (0,78 g; 2 equiv), brometo de propagilo (0,38 mL; 1,5 equiv) e acetona (30 mL). Deixou-se a mistura sob agitação a refluxo durante 24 h. Após conclusão da reacção o volume de acetona foi reduzido a 50% e foi adicionado H₂O (20ml) à solução. O precipitado resultante foi recolhido por filtração e seco sob vácuo. De seguida uma mistura do composto obtido com NaOH (0,03mL; 1,1equiv), H₂O e etanol foi aquecida a refluxo durante 1 h. Em seguida, a mistura foi arrefecida à temperatura ambiente, diluída com H₂O (20 mL) e depois neutralizada com HCl 1M. O precipitado resultante foi recolhido por filtração, lavado com H₂O e seco sob vácuo. O composto foi obtido como um sólido branco (0,628g; mmol; 67%)

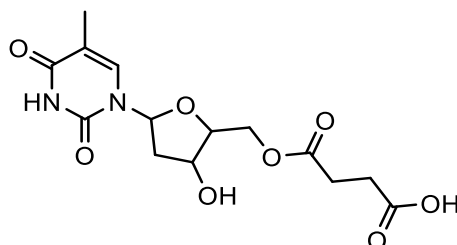
PF (literatura) = 190°-191° C PF = 173°-184° C

IV (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 3424; 3242; 1720; 1692; 1604; 1119.

¹H-RMN (400MHz;CDCl₃) δ (ppm): 7.44 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 4.79 (d, J = 1.9 Hz, 2H), 4.11 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 2.96 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.59 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.31 (s, 3H).

III.3 – Reacções de funcionalização da timidina

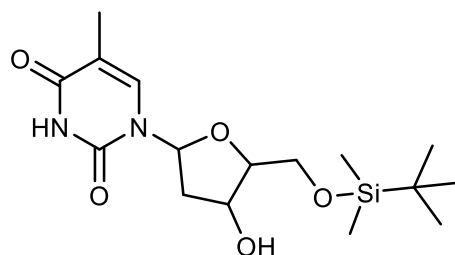
III.3.1 – Tentativa de síntese de ácido 4-((3-hidroxi-5-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1-(2H)-il)tetrahydrofuran-2-il)metoxi)-4-oxobutanóico



III.3.1

Dissolveu-se timidina (2,0 g; 1,24 mmol), di-metil-amino-piridina (1,0 g; 1 equiv) e anidrido succínico (1,65 g; 2 equiv) em DCM (seco) (50 mL) e TEA (1,2 mL) e deixou-se sob agitação à temperatura ambiente durante 24h. A reacção foi controlada por c.c.f. usando como eluente CH₃Cl/MeOH (9:1). Quando se observou o consumo total do material de partida (por ccf), diluiu-se a mistura em DCM e fizeram-se lavagens com solução de HCl 0.1 M. De seguida a fase orgânica foi lavada com H₂O e solução saturada de NaCl. Por fim secou-se a fase orgânica sob sulfato de sódio anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente à securo. Por fim o crude foi purificado utilizando cromatografia com sílica flash (Hexano:AcoEt 1:1). Não foi possível isolar o composto pretendido.

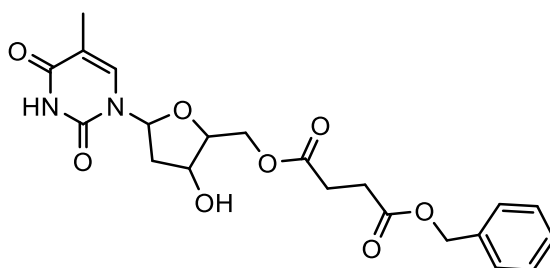
III.3.2– Tentativa de síntese de 5'-*O*-*tert*-butildimetilsilil-timidina



III.3.2

Dissolveu-se timidina (0,83 g, 3,39 mmol), imidazole (1,02 g; mmol; 4,4 equiv) e cloreto de *tert*-butildimetilsililo (0,56 g; 1,1 equiv) em DMF (seco, 6 mL) e deixou-se sob agitação à temperatura de 37°C durante 24 h. A reacção foi controlada por c.c.f. usando como eluente CH₃Cl/MeOH (9:1). Após consumo total do material de partida segundo a c.c.f., diluiu-se a mistura em DCM e fez-se lavagens com solução de HCl 0.1 M. Em seguida a fase orgânica foi lavada com H₂O e com solução saturada de NaCl. Por fim secou-se a fase orgânica sob Na₂SO₄, filtrou-se e evaporou-se o solvente. Por fim o crude foi purificado utilizando cromatografia com sílica flash (Hexano:AcoEt 1:1). Não foi possível isolar o composto pretendido.

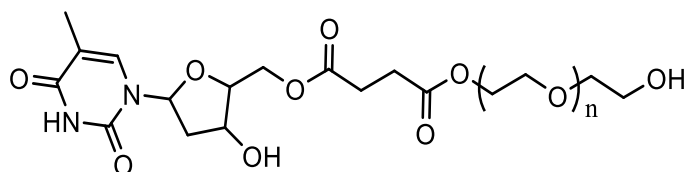
III.3.3– Tentativa de síntese de succinato benzílico de 5'-*O*-timidina



III.3.3

Dissolveu-se o composto anterior **III.3.1** (0,12 g; 1 equiv), DMAP (0,04 g; 1 equiv) e álcool benzílico (0,04 mL; 1 equiv) em DCM (seco) (7 mL). Por fim adicionou-se TEA (0,05 mL; 1 equiv) e deixou-se sob agitação à temperatura ambiente durante 24 h. A reacção foi controlada por c.c.f. usando como eluente CH₃Cl/MeOH (9:1). Não foi possível isolar o composto pretendido

III.3.4 – Tentativa de síntese de succinato *O*-5'-timidinil de polietilenoglicolil 2000

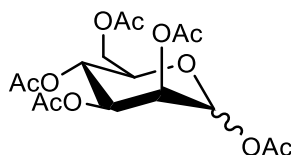


III.3.4

Dissolveu-se o composto III.3.1 (posteriormente à reação inicial) ($0,062 \times 10^{-3}$ mmol) juntamente com DMAP (0,07605g; 1eq), DCC (0,25g; 2eq) e polietilenoglicol-2000 (1,0355g; 0,8eq) em THF (seco) (15mL) e deixou-se sob agitação a temperatura ambiente. A reação foi controlada por c.c.f. utilizando MeOH/AcOEt (1:1) ou MeOH (100%). O produto desta reação foi purificado por cromatografia em coluna de sílica (empacotada com AcOEt) e utilizaram-se os eluentes Cloroformio/Metanol (9:1) para remover algum PEG que não reagiu, depois com Hex/AcOEt (1:1) para arrastar timidina que não reagiu e finalmente com Metanol para eluir todo o produto e terminar a coluna. Não foi possível isolar o composto pretendido.

III.4 – Síntese de derivados de carboidratos

III.4.1 – Síntese de 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil -D-manopirranose



III.4.1

Num balão dissolveu-se manose (1,02 g; 8,5mmol) em piridina (15 mL), seguida da adição de anidrido acético (4 mL; 41,7 mmol; 7,5 equiv.). Deixou-se a reação ficar sob agitação à temperatura ambiente durante 18h. A reação foi controlada por c.c.f (Hexano:AcOEt (1:1)). Após a reação estar concluída, levou-se à secura de modo a remover toda a piridina.

O composto final foi purificado por cromatografia em sílica flash utilizando Hexano:AcoEt (1:1).

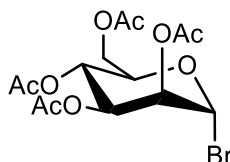
O composto foi obtido como um gel. (1,99g; mmol; 93%)

PF (literatura) = 116°-117° C PF = 113°-119° C

IV (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 2992, 1751, 1433, 1371, 1221

¹H-RMN (400MHz; CDCl₃) δ (ppm): 5.52 – 5.47 (m, 1H), 5.38 – 5.24 (m, 2H), 5.14 (dd, J = 10.0, 3.3 Hz, 1H), 4.30 (ddd, J = 12.3, 10.4, 5.1 Hz, 1H), 4.19 – 4.02 (m, 2H), 2.20 (s, 1H), 2.16 (d, J = 3.2 Hz, 2H), 2.09 (s, 1H)

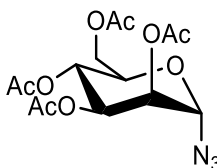
III.4.2 – Síntese de 1-bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-manopirranose



III.4.2

Dissolveu-se o composto **III.4.1** (0.59 g; 2.43 mmol), em DCM (seco) (8 mL) sob atmosfera de árgon e foi adicionada uma solução de HBr 33% em HOAc (2.7 mL; 10 equiv.). A mistura reaccional foi deixada sob agitação e controlada por c.c.f usando como eluente Hex/AcOEt (1:1). Após 2 h observou-se o consumo total do composto inicial e a mistura reaccional foi lavada com H₂O gelada e adicionou-se bicarbonato de sódio. Por fim a fase orgânica foi seca sob Na₂SO₄, filtrou-se e evaporou-se o solvente à secura. O composto foi obtido na forma de um óleo incolor (0,52g; 83%)

III.4.3 – Síntese de 1-azido-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- β -D-manopirranose



III.4.3

Dissolveu-se o açúcar bromado **III.4.2** (0.24g; 5.80x10⁻⁴ mol) em DMF seco (12 mL), sob atmosfera de árgon, e adicionou-se NaN₃ (0.15 g; 2.32x10⁻³ mol; 4 equiv). A reacção foi deixada sob agitação durante a noite. A reacção foi seguida por c.c.f. usando como eluente Hex/AcOEt (1:1). Após consumo total do material de partida evaporou-se o DMF à secura e dissolveu-se o resíduo com DCM. De seguida lavou-se a fase orgânica com água e depois secou-se sob Na₂SO₄, filtrou-se e levou-se à secura. O composto foi obtido como um sólido branco (0.16g; 73%)

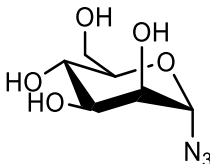
PF (literatura) = 114°-116° C PF = 111°-115° C

IV (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 2121, 1751, 1434, 1372, 1231.

¹H-RMN (400MHz;CDCl₃) δ (ppm): 5.44 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 5.25 (t, J = 10.0 Hz, 1H), 5.04 (dd, J = 10.1, 3.1 Hz, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.30-4.18 (m, 2H), 3.78-3.74 (m, 1H), 2.20 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.98 (s, 3H).

¹³C-NMR (101MHz;CDCl₃) δ (ppm): 169.96 (s), 85.11 (s), 74.62 (s), 70.95 (s), 69.23 (s), 65.34 (s), 62.14 (s), 20.73 (s).

III.4.3A – Tentativa de síntese de 1-azido- β -D- manopiranosose

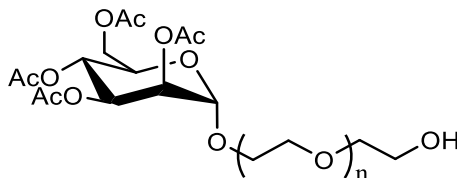


III.4.3A

Num balão dissolveu-se manose (0,5 g; mmol), trietilamina (3,9 mL; 10 equiv.), dimetilcarbonato (1,4g; 3 equiv.) e azida de sódio (1,81g; 10equiv.) em água (6 mL) e a reação ficou sob agitação á temperatura ambiente durante 14h. A reação foi controlada por c.c.f (AcOEt:MeOH:H₂O (5:2:1)). Após a reação estar concluída, adicionou-se EtOH e colocou-se o balão reacional num banho a 0°C para precipitar o composto. Depois filtrou-se e lavou-se o precipitado com EtOH.

O composto foi purificado utilizando cromatografia em coluna de sílica flash usando um gradiente de solventes, desde CHCl₃ até AcOEt/Acetona/H₂O (10:10:1). Foi obtido um sólido amarelado, contendo o composto pretendido, mas de difícil purificação.

III.4.4 – Síntese de 1-O- polietilenoglicolil 2000 - 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D- manopiranosose



III.4.4

Dissolveu-se PEG 2000 (0.81 g; 4.03x10⁻⁴ mol) em DCM seco (1,5 mL), sob atmosfera de árgon. A esta mistura foi adicionado um catalisador (ver tabela seguidamente indicada) e deixou-se sob agitação durante 15 minutos, adicionando-se depois lentamente o composto **III.4.1** ou **III.4.2** (0.20g; 0.49 mmol; 1.2 equiv.) dissolvido em DCM (seco) (1,5 mL). A reacção ficou sob agitação durante 48 horas, sendo controlada por c.c.f. utilizando como eluente CHCl₃/MeOH (9:1). Após conclusão da reação a mistura foi filtrada sob celite e lavada com DCM. O composto foi purificado usando cromatografia em coluna de sílica flash usando como eluente a mistura CHCl₃/MeOH (9:1). O composto foi obtido como um sólido branco.

IV (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 3551; 2875; 1746; 1644; 1455; 1349; 1246

¹H-RMN (400MHz;CDCl₃) δ (ppm): 5.42 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 5.19 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 5.07 (dd, J = 9.9, 3.8 Hz, 1H), 4.55 – 4.50 (m, 1H), 4.16 (dd, J = 12.1, 4.8 Hz, 2H), 4.09 – 4.01 (m, 2H), 3.77 – 3.34 (m, 192H), 2.04 (s, 1H), 1.99 (s, 1H), 1.97 (s, 2H).

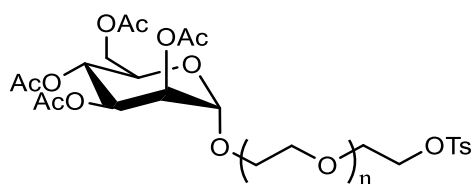
Ensaio	Material de partida	PEG (equiv)	Catalisador (equiv)	Rendimento	Observações
1	Açúcar acetilado	1 equiv	BF ₃ .OEt ₂ (6equiv)	57%	Sólido branco
2	Açúcar bromado (1,2 equiv)	1 equiv	Ag ₂ CO ₃ (2 equiv)	93%	Sólido branco

Tabela 2 – Ensaio com açúcares e diferentes catalisadores

PF (ensaio 1) = 42°-45° C

PF (ensaio 2) = 44°-48° C

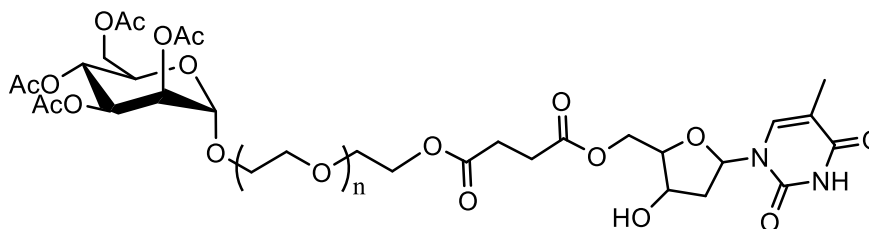
III.4.5 – Tentativa de síntese de 1-*O*-tosilato de polietilenoglicolil 2000 - 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D- manopirranose



III.4.5

Dissolveu-se o composto **III.3.1** (0,51g; 1 equiv) em DCM (10 mL) e trietilamina (0,04 mL) e adicionou-se em cloreto de para-tolueno sulfonilo (0,05g; mmol; 1,2 equiv). Deixou-se a reação à temperatura ambiente sob agitação durante 24 h. Após conclusão da reação a mistura foi lavada com H₂O e solução saturada de NaCl e a fase orgânica foi seca sob Na₂SO₄, filtrada e evaporada à securo. O composto foi purificado por cromatografia preparativa usando como eluente CHCl₃:MeOH (9:1). Não foi possível isolar o composto pretendido.

III.4.6 – Tentativa de síntese de succinato de timidil-3''-O-(1-O-polietilenoglicolil 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D- manopiranosilo

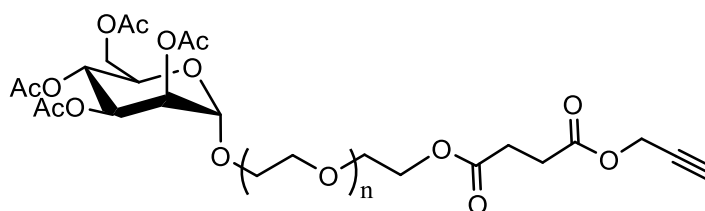


III.4.6

Num balão adicionou-se o composto **III.4.4** (1,9g), **III.3.1** (0,33g; 1,2 equiv) e DMAP (0,12g) e dissolveu-se em DCM (seco) (24mL). Por fim adicionou-se trietilamina (0,13mL) e deixou-se sob agitação a refluxo durante 24h. A reacção foi controlada por c.c.f. usando como eluente CH₃Cl/MeOH (9:1).

Após o termino da reacção filtrou-se a mistura num filtro de placa porosa e diluiu-se a solução em DCM e lavou-se com uma solução aquosa de ácido acético 5% e de seguida com H₂O. De seguida secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro e filtrou-se para concentrar e purificar, não sendo possível isolar o composto pretendido.

III.4.7 – Síntese de succinato de 3'-O-propargil 1-O-polietilenoglicolil 2,3,4,6-tetra-O-acetil- α - manopiranoose



III.4.7

Num balão adicionou-se o composto **III.4.4** (0,64g; 0,273mmol), anidrido succínico (0,027g; 1 equiv) e DMAP (0,034g; 1 equiv) em 1,4-dioxano (seco) (12mL). Por fim adicionou-se TEA (38microL; 1 equiv) e deixou-se sob agitação à t.a durante 24h e foi controlada por c.c.f. usando como eluente CH₃Cl/MeOH (9:1). Após a reacção estar concluída evaporou-se o conteúdo do balão a securo e resuspendeu-se a mistura em DMF (seco). De seguida adicionou-se KOH (6,2 mg, 1 equiv) e deixou-se em agitação durante 1 h a 100°C e posteriormente adicionou-se brometo

de propagilo (0.01mL, 2 equiv) gota-a-gota e deixou-se sob agitação a 70°C durante a noite (aprox. 15h). Reacção foi controlada por c.c.f. utilizando o eluente CH₃Cl/MeOH (9:1).

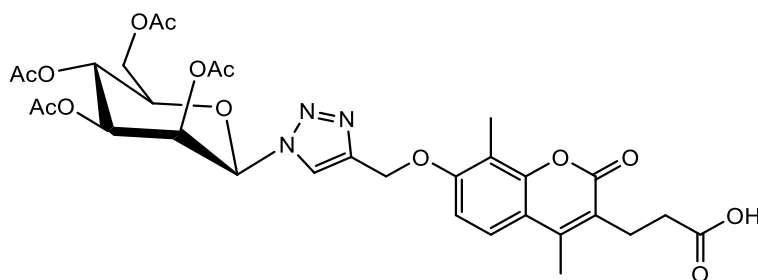
Terminada a reacção diluiu-se a solução em DCM e lavou-se primeiramente com CH₂Cl₂, de seguida H₂O e por fim 3x com uma solução aquosa NaHSO₄ 10% e secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro. O composto foi obtido como um sólido amarelado (0.48g; 74%)

PF = 45°-52° C

IV (KBr) ν_{max} (cm⁻¹): 3473; 2877; 1740; 1664; 1455; 1251; 1101

¹H-RMN (400MHz;CDCl₃) δ (ppm): 4.23 (s, 1H), 3.82 – 3.41 (m, 1H), 2.95 (s, 1H), 2.87 (s, 1H), 2.66 (s, 1H), 2.13 (s, 1H), 2.07 (s, 1H), 2.02 (s, 1H), 1.97 (s, 1H).

III.4.8 – Tentativa de síntese de 1-[triazolil-2''-(ácido(4',8'-dimetil-7'-O-etil-3'-cumarinil)-3'-propanóico)]-2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D- manopirranose



III.4.8

Num balão adicionou-se o composto **III.4.3** (0.097g; 1.1 equiv) e **III.2.3** (0.078g; 0.24mmol), CuI (0.5equiv), DIPEA (0.08mL; 2 equiv) em THF (seco) (6mL) e deixou-se sob agitação a refluxo durante 17h. A reacção foi controlada por c.c.f. usando como eluente Hex/AcOEt (1:1). Após a reacção estar terminada dilui-se a mistura em DCM e extraiu-se a fase organica 3x com H₂O e brine. Secou-se a fase organica sob Na₂SO₄, filtrou-se e lavou-se à secura. O composto foi purificado em placa preparativa usando como eluente Hex/AcOEt (1:2). Não foi possível isolar o composto pretendido.

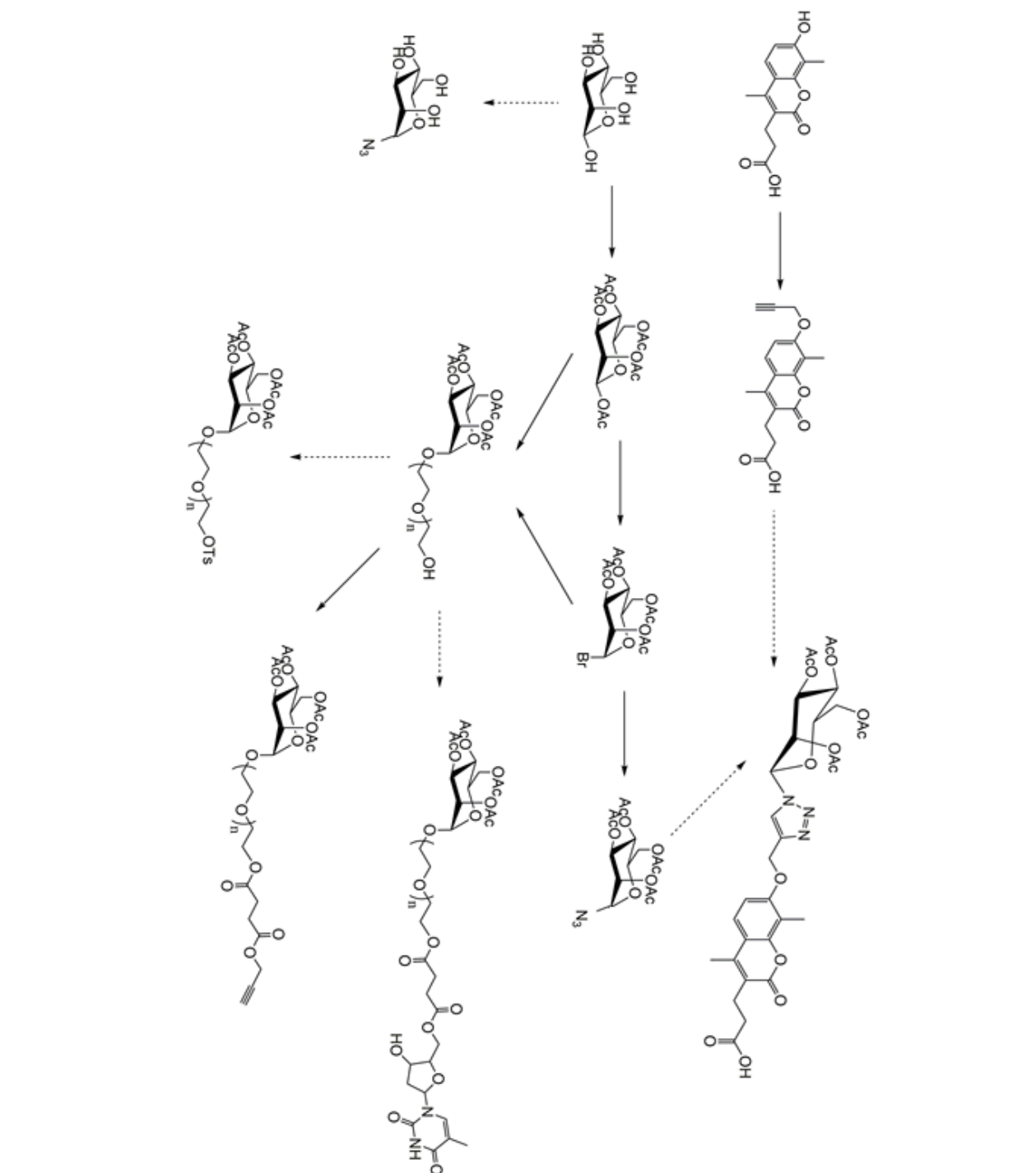
Bibliografia

- (1) Poláková, M.; Horák, R.; Šesták, S.; Holková, I. *Carbohydr. Res.* **2016**, 428, 62–71.
- (2) Crucho, C. I. C. *ChemMedChem* **2015**, 10 (1), 24–38.
- (3) Leucuta, S. E. *Curr. Clin. Pharmacol.* **2010**, 5 (4), 257–280.
- (4) Marradi, M.; García, I.; Penadés, S. *Carbohydrate-based nanoparticles for potential applications in medicine*; 2011; Vol. 104.
- (5) Schroeder, U. *J. Pharm. Sci. Vol.* **1998**, 87 (11), 1305–1307.
- (6) Raghuvanshi, R. S.; Katare, Y. K.; Lalwani, K.; Ali, M. M.; Singh, O.; Panda, A. K. *Int. J. Pharm.* **2002**, 245 (1-2), 109–121.
- (7) Kreuter, J. *Pharmaceutics* **2015**, 7 (1), 3–9.
- (8) Dwek, R. A. *Chem. Rev.* **1996**, 96 (2), 683–720.
- (9) Levy, D. E. *The Organic Chemistry of Sugars*; Levy, D. E., Fügedi, P., Eds.; CRC Press, 2006.
- (10) Stick, R. *Carbohydrates: The Essential Molecules of Life*; 2008.
- (11) Lalatsa, a.; Barbu, E. *Carbohydrate Nanoparticles for Brain Delivery*, 1st ed.; Elsevier Inc., 2016; Vol. 130.
- (12) Cipolla, L.; La Ferla, B.; Airoldi, C.; Zona, C.; Orsato, A.; Shaikh, N.; Russo, L.; Nicotra, F. *Future Med. Chem.* **2010**, 2 (4), 587–599.
- (13) Hirschmann, R.; Nicolaou, K. C.; Pietranico, S.; Salvino, J.; Leahy, E. M.; Saprengeler, paul A.; Furst, G.; Smith, A. B.; Strader, C. D.; Cascieri, M. A.; Candelore, M. R.; Donaldson, C.; Vale, W.; Maechler, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114 (23), 9217–9218.
- (14) Hu, X.; Shi, Y.; Zhang, P.; Miao, M.; Zhang, T.; Jiang, B. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2016**, 15 (4), 773–785.
- (15) Hricovíniová, Z. *Tetrahedron Asymmetry* **2011**, 22 (11), 1184–1188.
- (16) Bairagi, S. H.; Salaskar, P. P.; Loke, S. D.; Surve, N. N.; Tandel, D. V.; Dusara, M. D. *Int. J. Pharm. Res.* **2012**, 4 (2), 16–19.
- (17) Moghaddam, F. M.; Mirjafary, Z.; Saeidian, H. *Chem. Eng.* **2009**, 16 (1), 12–16.
- (18) Wang, Z. *Compr. Org. Name Reactins Reagents* **2010**, 2160–2163.

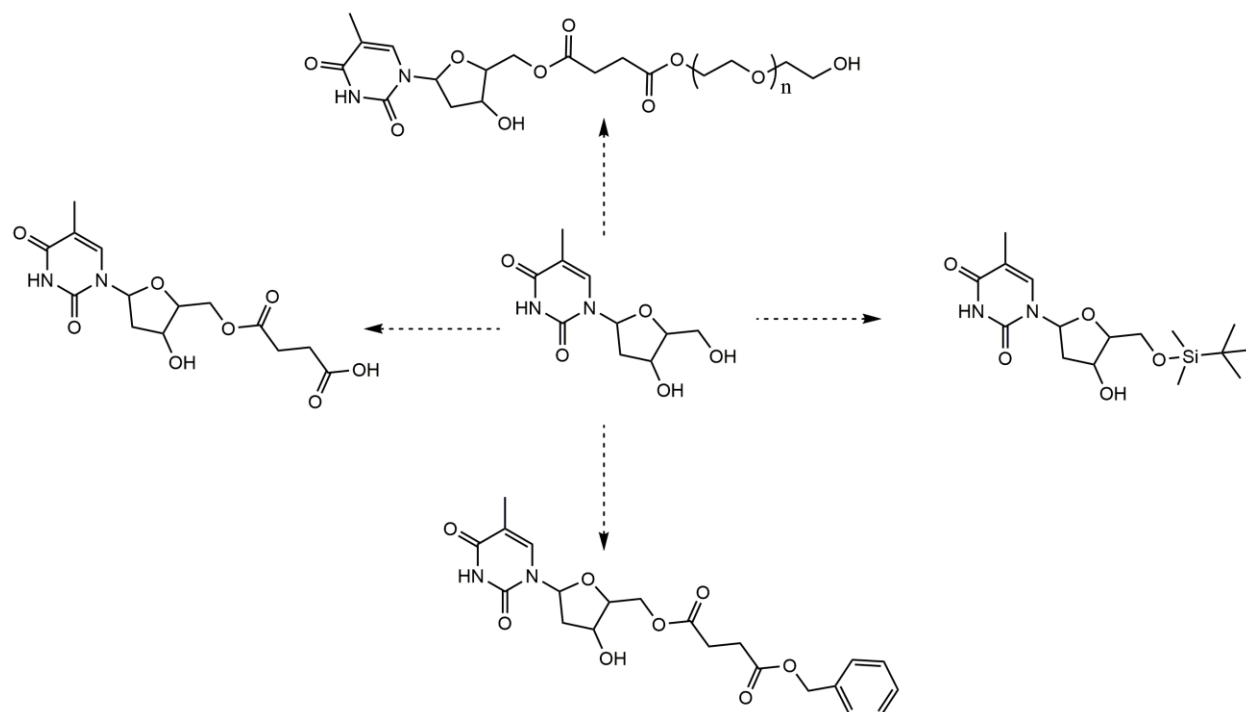
- (19) Giorgi, M. E.; Agusti, R.; De Lederkremer, R. M. *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 1433–1444.
- (20) Baraniak, D.; Kacprzak, K.; Celewicz, L. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2011**, *21* (2), 723–726.
- (21) Jadhav, R. P.; Raundal, H. N.; Patil, A. a.; Bobade, V. D. *J. Saudi Chem. Soc.* **2017**, *21* (2), 152–159.
- (22) Dangroo, N. a.; Dar, a. a.; Shankar, R.; Khuroo, M. a.; Sangwan, P. L. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57* (25), 2717–2722.
- (23) Haider, S.; Alam, M. S.; Hamid, H. *Inflamm. Cell Signal.* **2014**, 1–10.
- (24) Dheer, D.; Singh, V.; Shankar, R. *Bioorg. Chem.* **2017**, *71*, 30–54.
- (25) Kappe, C. O.; Van der Eycken, E. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39* (4), 1280–1290.
- (26) Huisgen, R.; Szeimies, G.; Möbius, L. *Chem. Ber.* **1967**, *100* (8), 2494–2507.
- (27) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2001**, *40* (11), 2004–2021.
- (28) Witczak, Z. J.; Bielski, R. *Click Chemistry in Glycoscience: New Developments and Strategies*. 2013.
- (29) Liang, L.; Astruc, D. *Coord. Chem. Rev.* **2011**, *255* (23-24), 2933–2945.

Apêndices e esquemas gerais

Esquema 25 - Esquema geral para funcionalização de cumarinas e síntese de novos derivados de carboidratos.	48
Esquema 26 - Esquema geral de tentativa de síntese de novos derivados de timidina	49
Figura 8 - Espectro de ^1H -RMN resultante da tentativa de síntese do composto III.2.2 em CDCl_3	50
Figura 9 - Espectro de ^1H -RMN do composto III.2.3 em CDCl_3	51
Figura 10 - Espectro de ^1H -RMN da tentativa de síntese do composto III.3.1 em CDCl_3	52
Figura 11 - Espectro de ^1H -RMN do composto III.4.1 em CDCl_3	53
Figura 12 - Espectro de ^1H -RMN do composto III.4.3 em CDCl_3	54
Figura 13 - Espectro de ^{13}C -RMN do composto III.4.3 em CDCl_3	55
Figura 14 - Espectro de ^1H -RMN do composto III.4.4 em CDCl_3	56
Figura 15 - Espectro de ^1H -RMN do composto III.4.7 em CDCl_3	57
Figura 16 - Espectro de IV do composto III.4.3	58
Figura 17 - Espectro de IV do composto III.2.3	59
Figura 18 - Espectro de IV do composto III.4.1	60
Figura 19 - Espectro de IV do composto III.4.4	61
Figura 20 - Espectro de IV do composto III.4.7	62



Esquema 25 - Esquema geral para funcionalização de cumarinas e síntese de novos derivados de carboidratos.



Esquema 26 - Esquema geral de tentativa de síntese de novos derivados de timidina

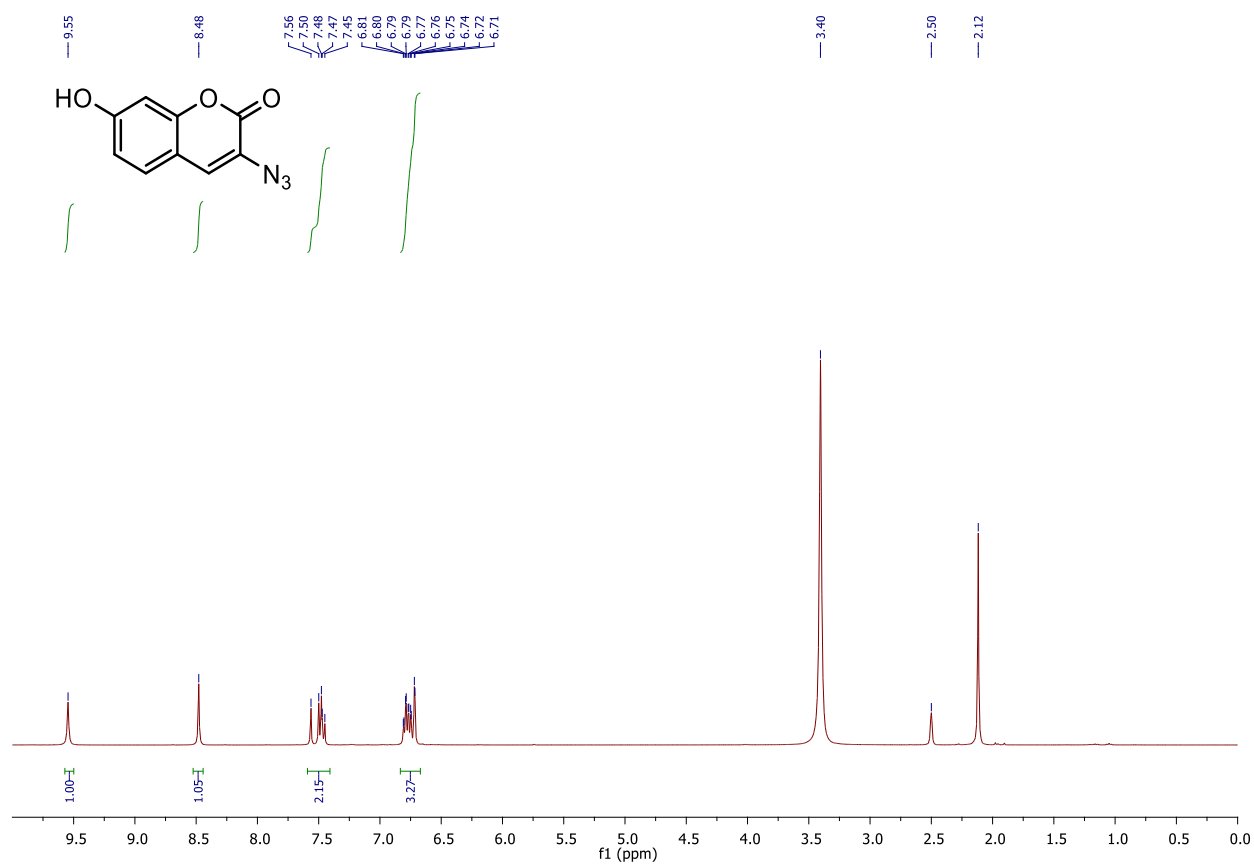


Figura 8 - Espectro de ¹H-RMN resultante da tentativa de síntese do composto **III.2.2** em CDCl₃.

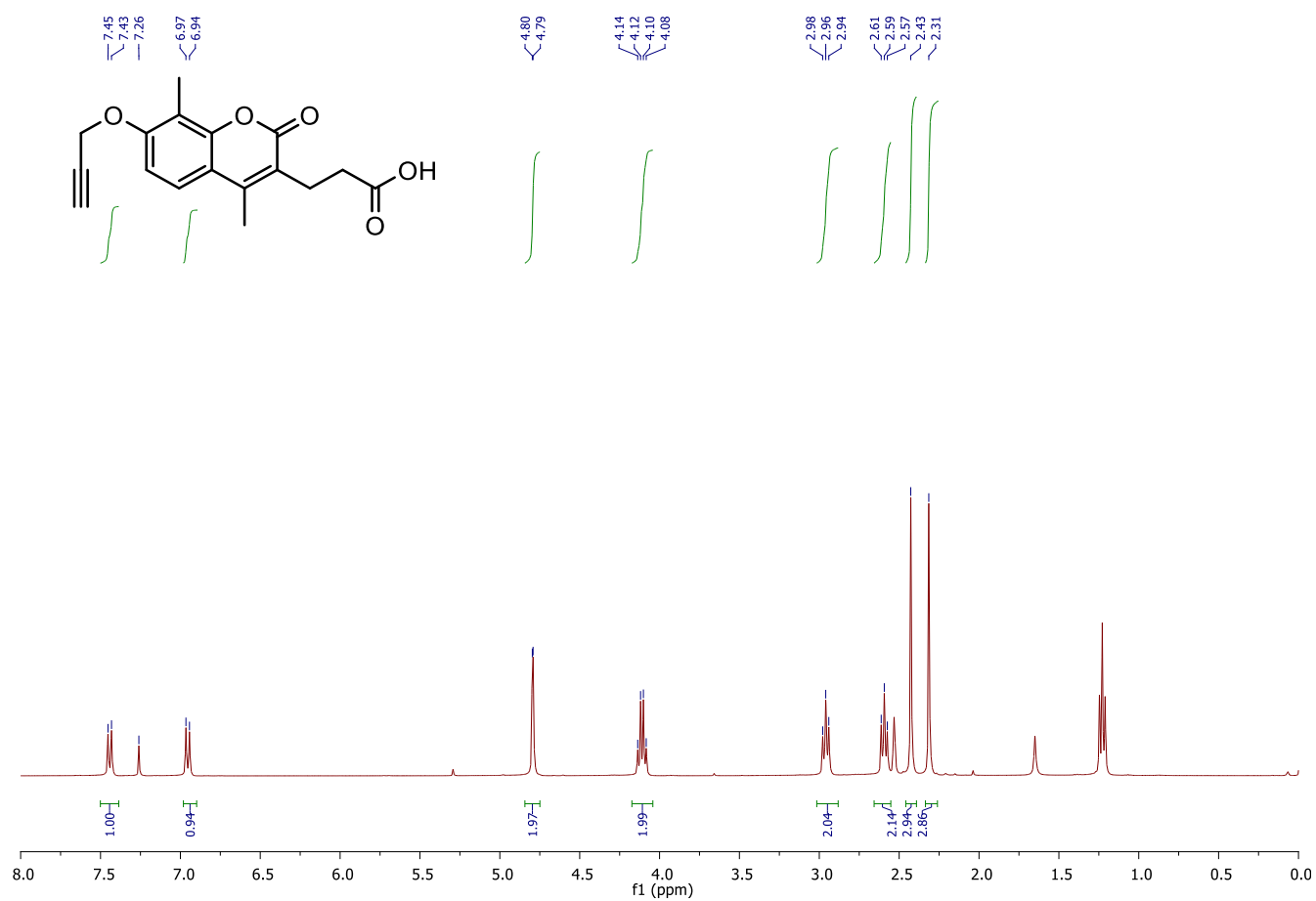


Figura 9 - Espectro de ^1H -RMN do composto **III.2.3** em CDCl_3 .

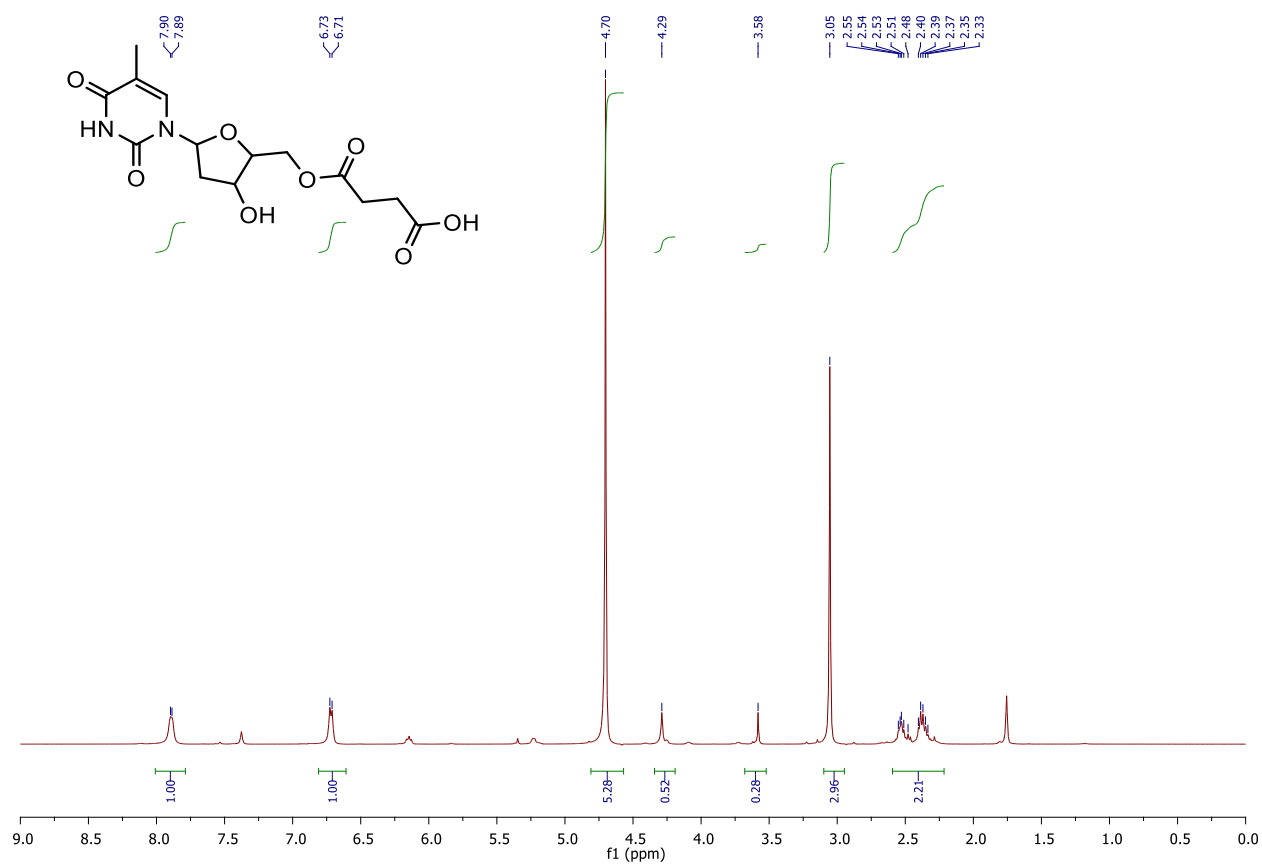


Figura 10 - Espectro de ^1H -RMN da tentativa de síntese do composto **III.3.1** em CDCl₃.

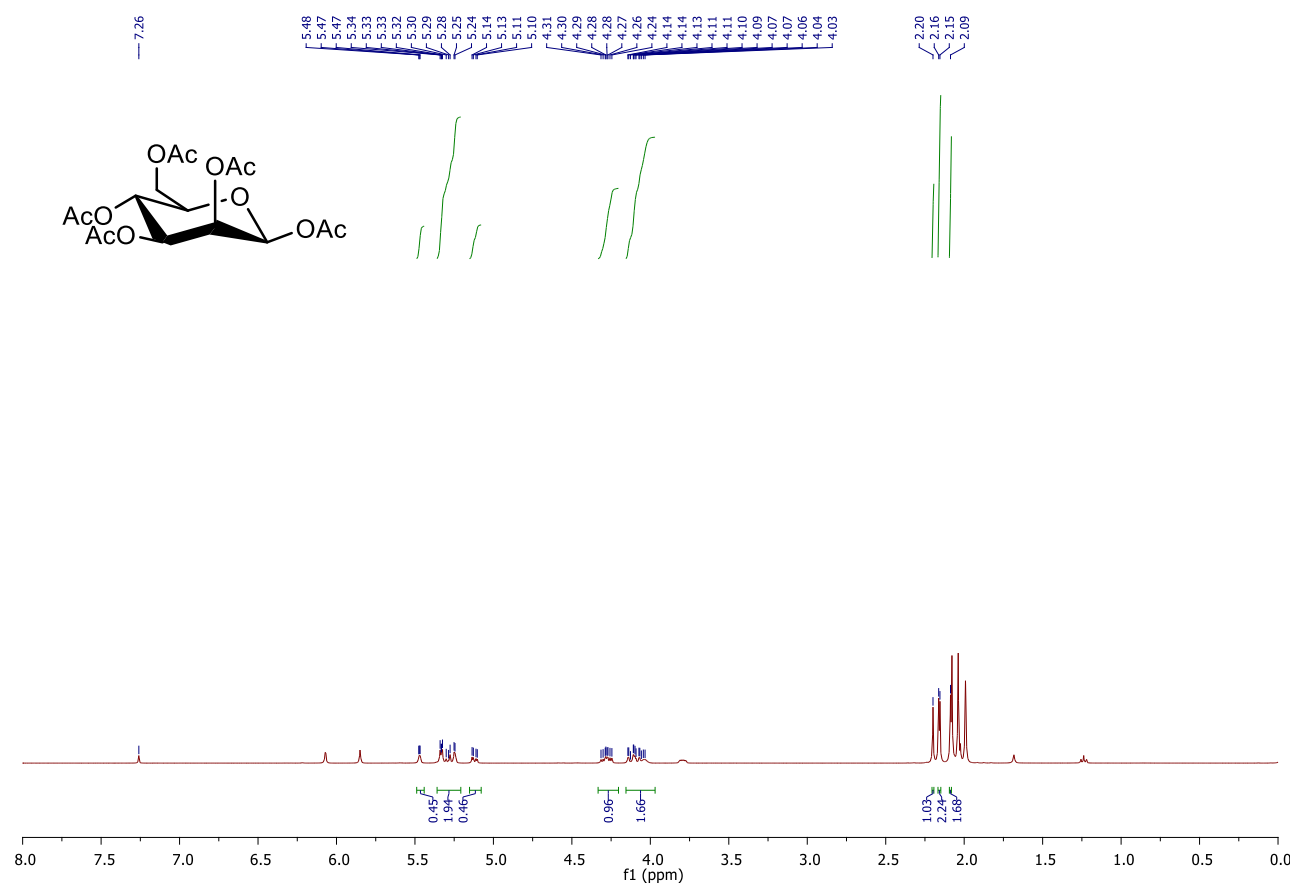


Figura 11 - Espectro de ^1H -RMN do composto **III.4.1** em CDCl_3 .

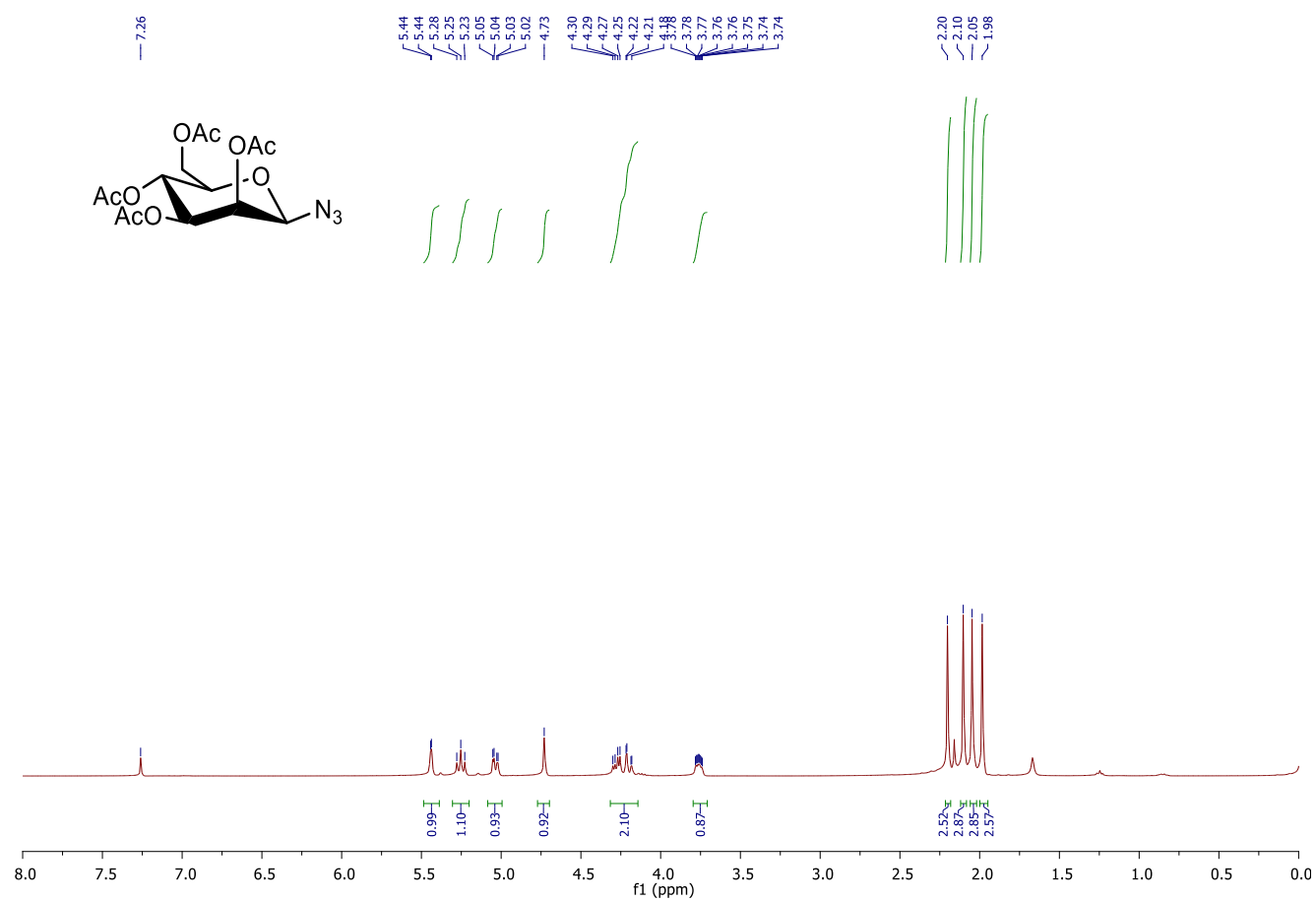


Figura 12 - Espectro de 1H -RMN do composto **III.4.3** em CDCl₃.

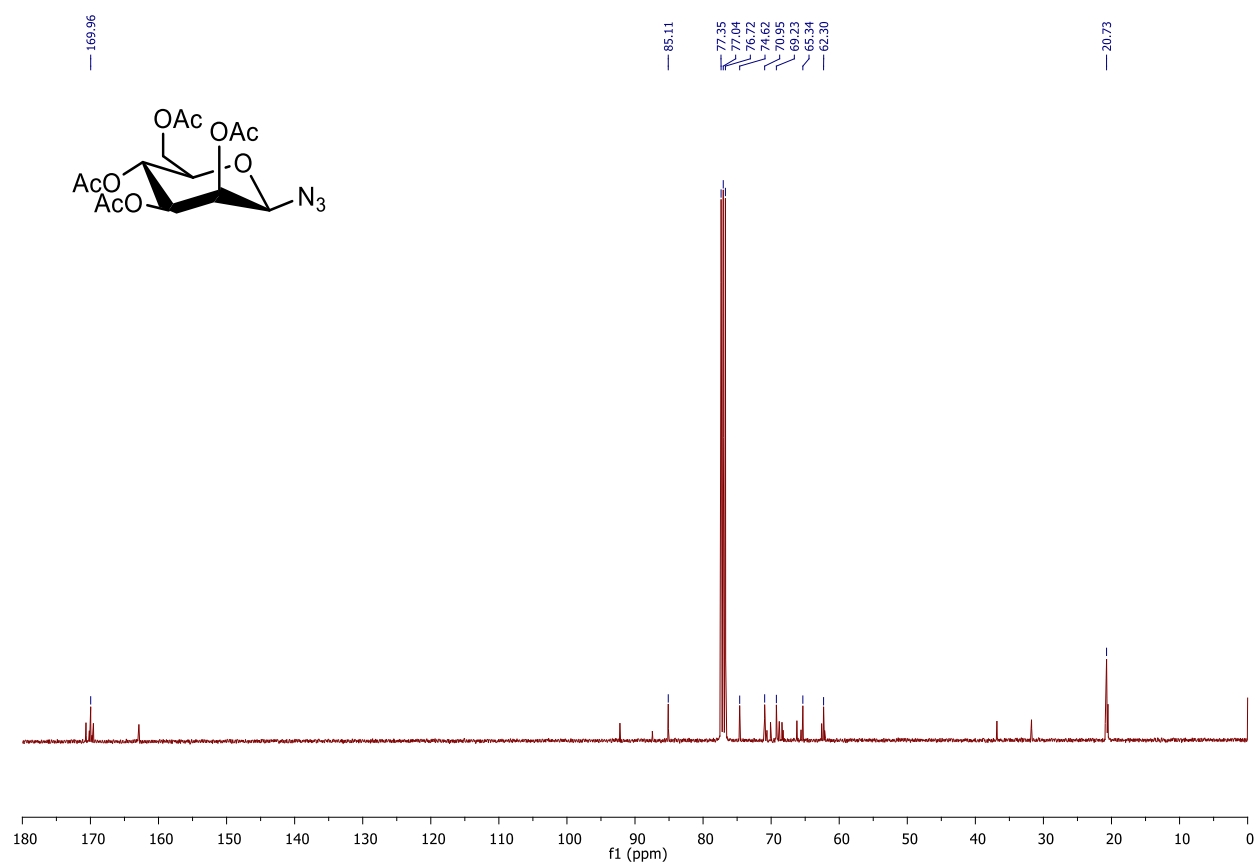


Figura 13 - Espectro de ^{13}C -RMN do composto **III.4.3** em CDCl_3 .

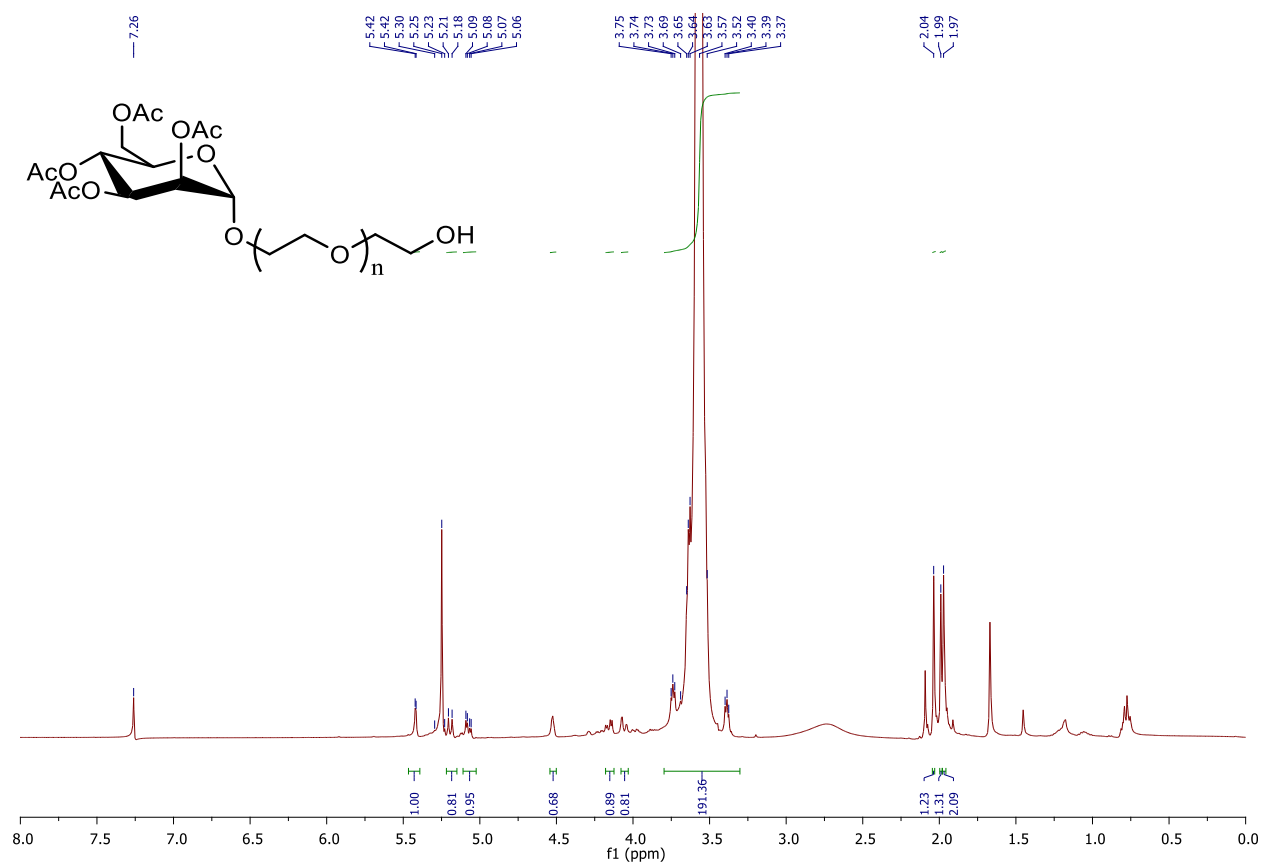


Figura 14 - Espectro de ^1H -RMN do composto **III.4.4** em CDCl₃.

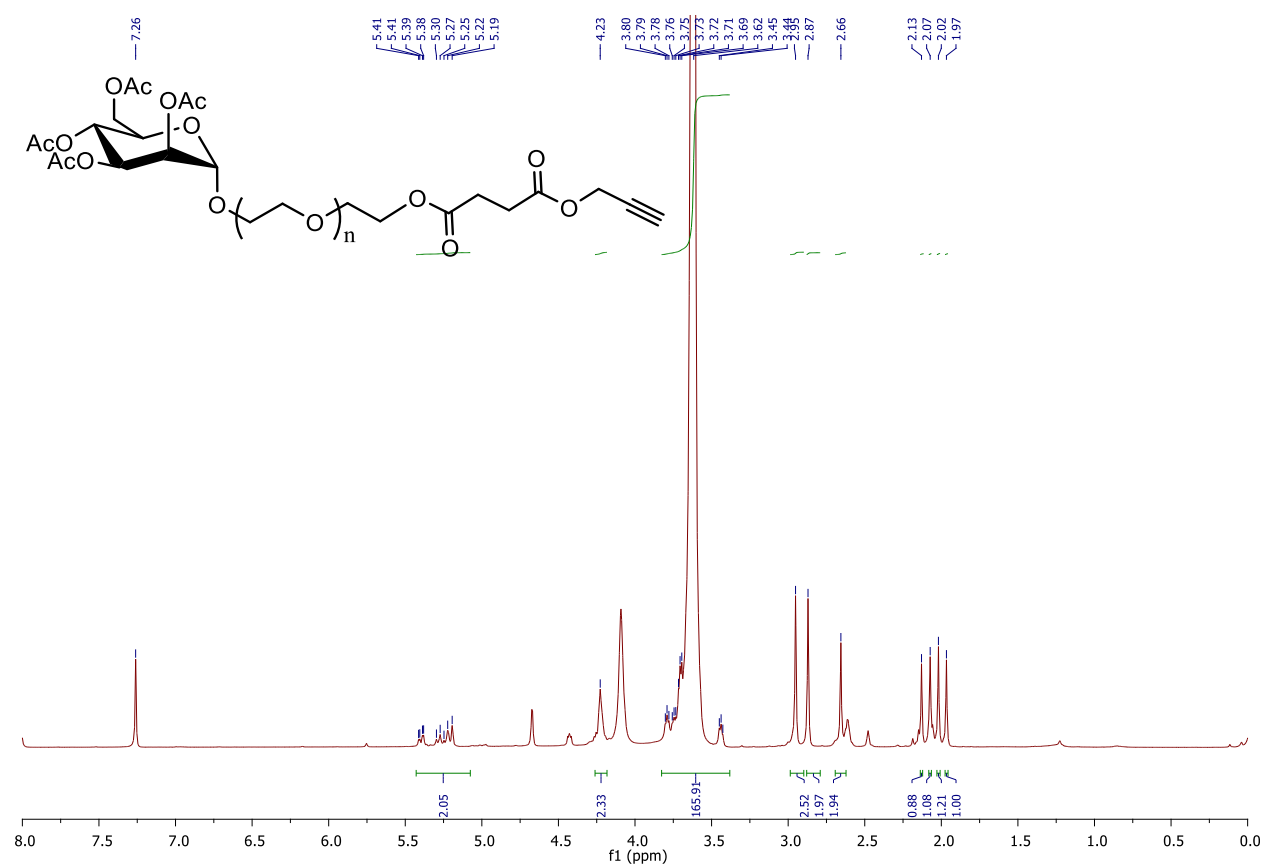


Figura 15 - Espectro de ^1H -RMN do composto **III.4.7** em CDCl_3 .

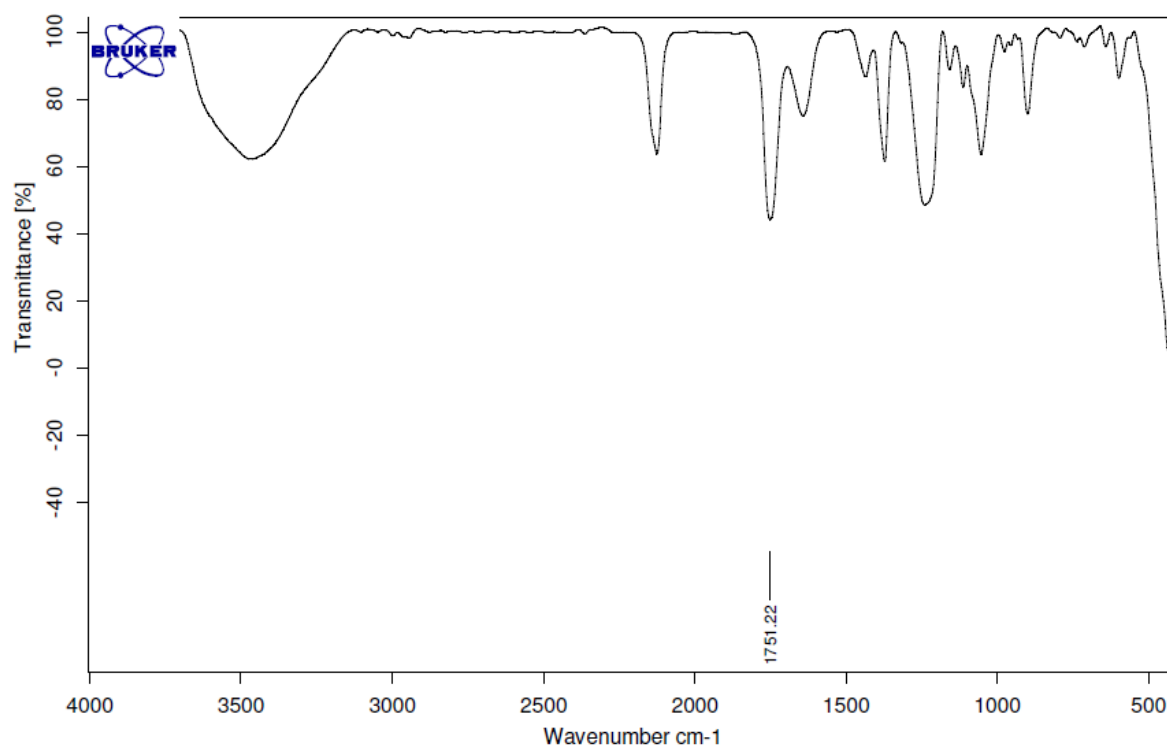


Figura 16 - Espectro de IV do composto **III.4.3**

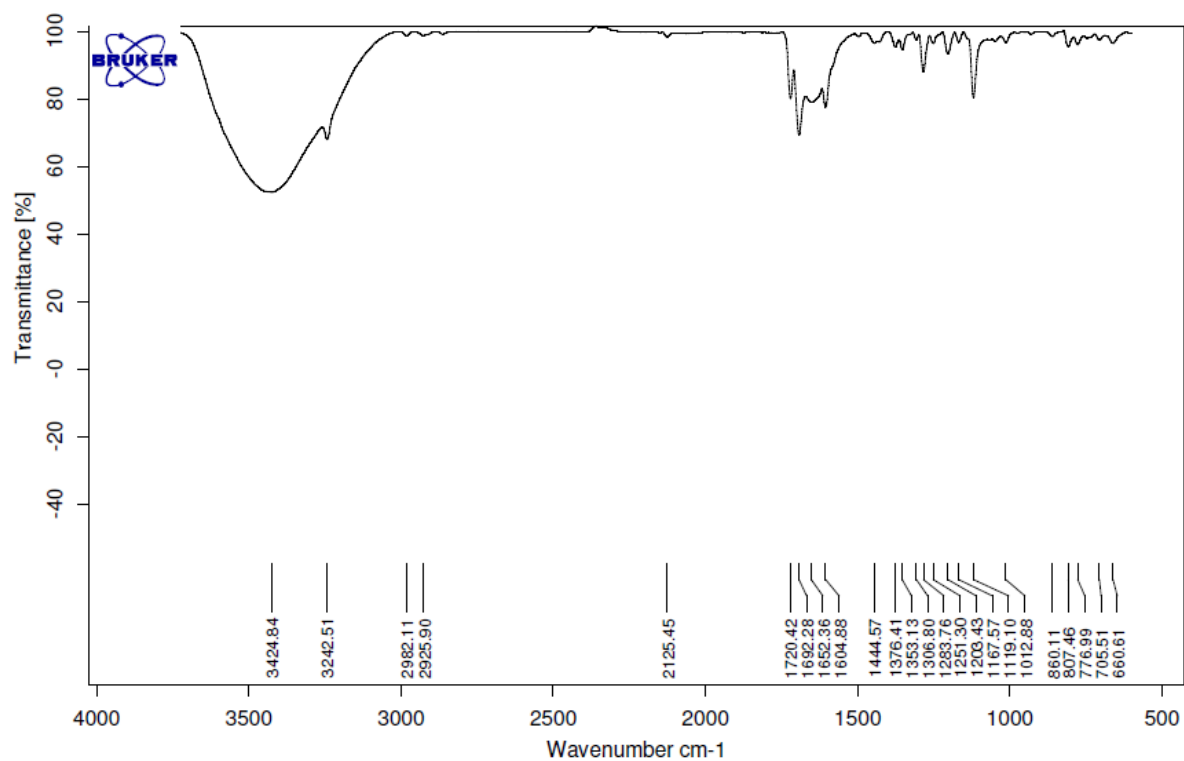


Figura 17 - Espectro de IV do composto **III.2.3**

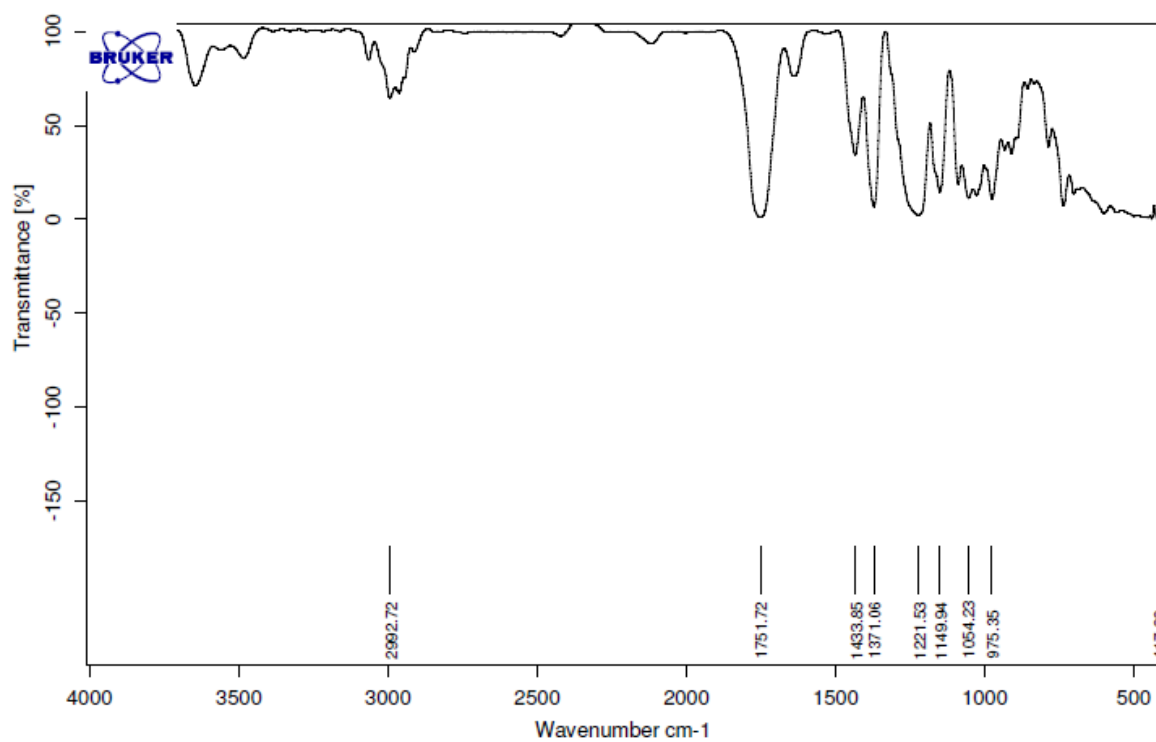


Figura 18 - Espectro de IV do composto **III.4.1**

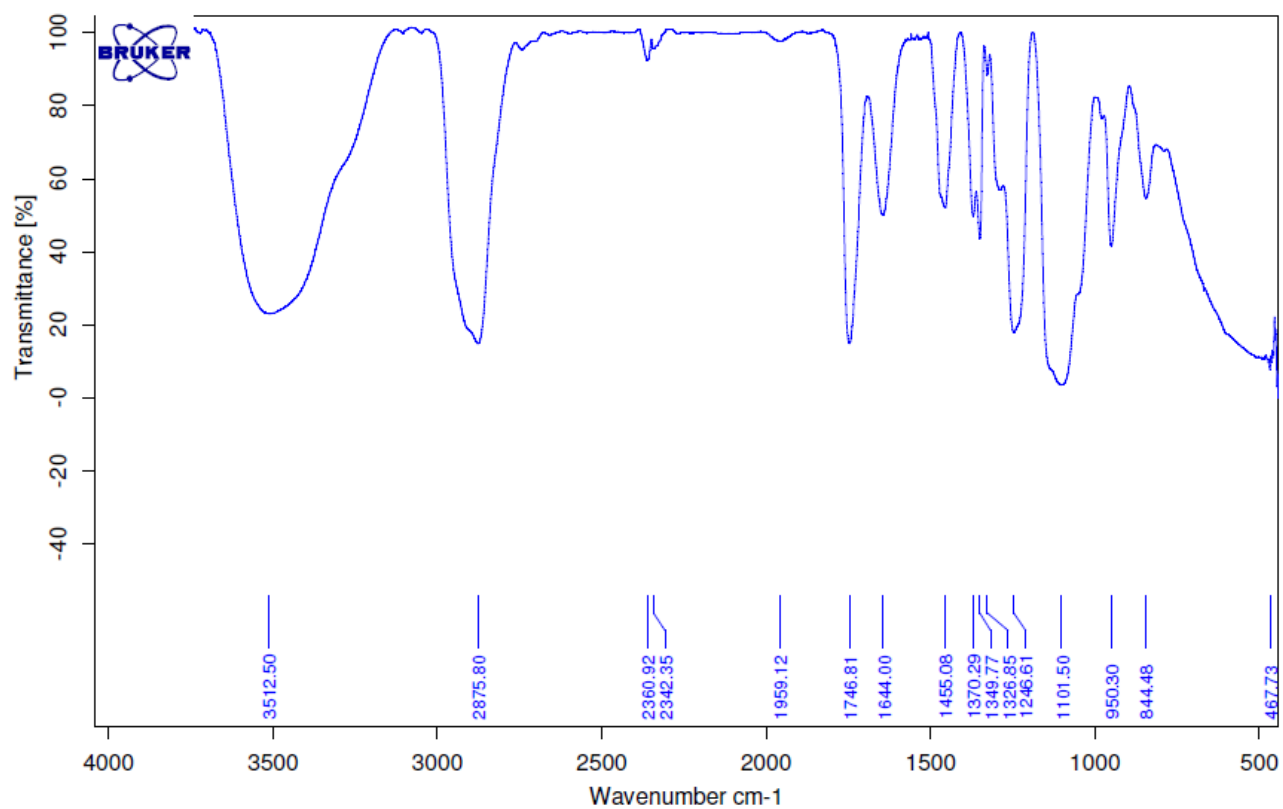


Figura 19 - Espectro de IV do composto **III.4.4**

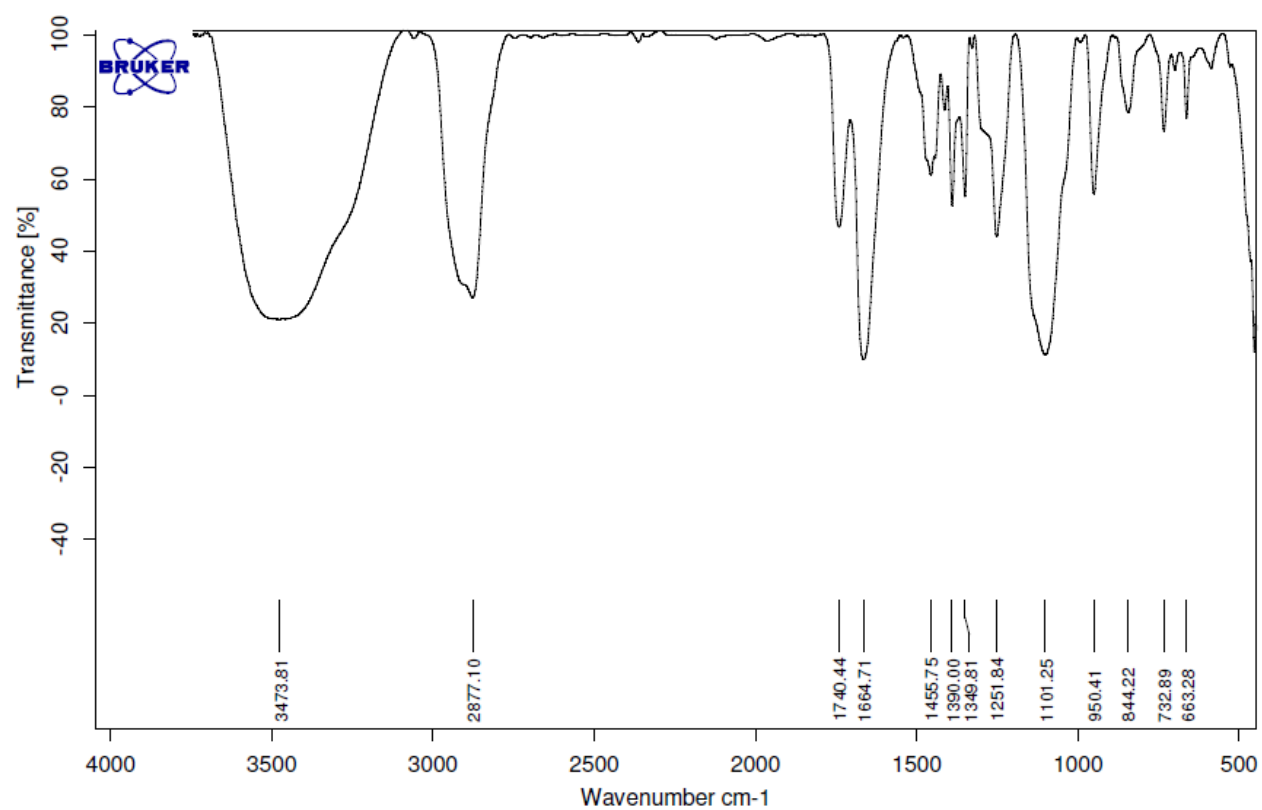


Figura 20 - Espectro de IV do composto **III.4.7**